

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1927-1928.

N° 4.

RECHERCHES SUR LA FORMATION ET LE DOSAGE

DE

l'Essence sulfurée dans la Moutarde noire
et dans l'Alliaire officinale.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

1928.

PAR

BOIVIN, Rodolphe

PHARMACIEN

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY

MM. BOUGAULT, Président,
GRIMBERT, Professeur,
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1928

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1927-1928.

N° 4.

RECHERCHES SUR LA FORMATION ET LE DOSAGE

DE

l'Essence sulfurée dans la Moutarde noire
et dans l'Alliaire officinale.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

1928.

PAR

BOIVIN, Rodolphe

PHARMACIEN

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY

MM. BOUGAULT, Président,
GRIMBERT, Professeur,
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1928

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, I.
 PERROT, Assesseur, O. *, I.
 G. DURSENT, Secrétaire, *, I.

PROFESSEURS

MM. H. GAUTIER, O. *, I.....	Chimie minérale.
RADAIS, O. *, I.....	Cryptogamie et Micro- biologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. *, I.....	Chimie organique.
PERROT, O. *, I.....	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIERE, O. *, I.....	Zoologie.
GRIMBERT, *, I.....	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, I.....	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, I.....	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, I.....	Toxicologie.
BOUGAULT, *, I.....	Chimie analytique.
GORIS, *, I.....	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, I.....	Botanique générale.
TASSILLY, *, I.....	Physique.

Doyens honoraires : MM. GUIGNARD, C. *, I. et H. GAUTIER, O. *, I.
 Professeurs honoraires : MM. MOUREU, G. O. *, I. et A. VILLIERS *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, I....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *, I....	Cryptogamie.
DAMIENS, *, I.....	Minéralogie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, I.	MM. LAUNOY, *, I.	MM. PICON, I.
DAMIENS, *, I.	HÉRISSEY, *, I.	FABRE, A.
LUTZ, *, I.	DELABY.	MASCRÉ, I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, I.....	Chimie générale.
COUSIN, *, I.....	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.....	Micrographie.
LEROUX, I.....	Physique.
DEVAL, I.....	Microbiologie.
Les Agrégés HÉRISSEY *, DELABY, PICON I....	Travaux généraux de 4 ^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, I.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUGAULT,

PHARMACIEN DE L'HÔPITAL DE LA CHARITÉ,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Témoignage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMBERT,

PHARMACIEN EN CHEF HONORAIRE DES HÔPITAUX DE PARIS,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Respectueux hommage.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ HENRI HÉRISSEY,

PHARMACIEN DE L'HÔPITAL SAINT-ANTOINE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de gratitude et de respectueux dévouement.

A MON PERE,

A MA MERE,

Témoignage de reconnaissance et d'affection.

A CAMILLE ET GEORGES LAIR, MES COUSINÉ ET COUSIN,

*pour l'aide affectueuse et l'amitié qu'ils
me prodiguent, hommage de gratitude.*

AUX MIENS ET A MES AMIS.

AVANT-PROPOS.

Un certain nombre de plantes de la famille des Crucifères offrent un grand intérêt thérapeutique. Parmi elles, la Moutarde noire a pris une place de premier ordre en tant que révulsif. Depuis une époque déjà lointaine, elle a été l'objet de nombreux travaux dont le but était de déterminer la nature de son principe actif et de fixer des règles sûres en vue du dosage de ce dernier, afin d'arriver à un emploi thérapeutique judicieux de la drogue.

Mais, si des méthodes de dosage de ce principe actif, de l'essence de moutarde en fait, ont été proposées successivement en grand nombre, il s'en faut de beaucoup que les résultats trouvés par ces différentes méthodes aient été couramment concordants : cela explique les multiples recherches qui ont eu pour but le titrage de l'essence que développe la poudre de graine de moutarde au contact de l'eau.

Nous avons tenté dans cette Thèse d'exposer d'abord les travaux de nos devanciers sur la composition et l'essai de la graine de Moutarde noire ; à cet effet, nous avons réuni les documents bibliographiques afférents à cette question, afin d'en faire une étude critique. Nous avons été ainsi amené à établir un procédé original, sûr et pratique, de préparation du glucoside sulfuré de la Moutarde. Nous

avons pu, en possession de ce glucoside à l'état pur, apporter notre contribution à l'étude de son dédoublement et au dosage de l'allylsénévol qui en dérive.

Cette mise au point d'un procédé d'extraction commode du glucoside de la Moutarde ayant été réalisée, il nous a été possible d'entreprendre avec fruit l'identification du glucoside sulfuré d'une plante de la famille des Crucifères, qui jouissait autrefois d'une certaine notoriété en médecine populaire. L'Alliaire. L'Alliaire officinale, *Alliaria officinalis* D. C., *Sisymbrium alliaria* Scop., maintenant tombée dans l'oubli, ne semble pas mériter cette déchéance, car sa semence pourrait sans doute remplacer celle de la Moutarde noire dans l'emploi médical ; cette semence contient, en effet, une quantité égale, si ce n'est supérieure, du même glucoside sulfuré, le myronate de potasse, comme nous avons pu nous en rendre compte par l'extraction de ce glucoside et l'étude de ses propriétés.

*
* *

Avant d'entreprendre l'exposé de notre travail, nous tenons à remercier notre président de thèse, Monsieur le Professeur BOUGAULT, d'avoir bien voulu nous inscrire à son laboratoire ; qu'il veuille bien trouver ici l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

Que Monsieur le Professeur GRIMBERT daigne agréer nos remerciements respectueux pour avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

*
* *

Nous ne pouvons guère, en quelques mots, exprimer à notre maître vénéré, Monsieur le Professeur agrégé Henri HÉRISSEY, la respectueuse et profonde reconnaissance que nous lui devons pour avoir bien voulu nous fournir le sujet de ce travail et nous avoir prodigué son enseignement, en nous guidant journellement dans ces recherches effectuées dans son laboratoire de l'hôpital Saint-Antoine. Qu'il veuille bien lire ici le témoignage de gratitude, de respectueux dévouement et de profond attachement d'un élève qui lui doit tant.

PLAN DU TRAVAIL.

1. — Etude de la Moutarde noire.

- a)* Historique.
- b)* La Moutarde noire dans les diverses Pharmacopées.
- c)* Revue des travaux antérieurs.
- d)* Préparation du ferment et du glucoside.
- e)* Critique des différents travaux.
- f)* Mode d'extraction du ferment et du glucoside.
- g)* Procédé original d'extraction du glucoside.
- h)* Contribution à l'étude de la décomposition fermentaire du glucoside ; conclusions pratiques à en tirer.

2. — Etude de l'Alliaire.

- a)* Historique ; caractères généraux de la plante ; richesse en principe actif ; étude de la production de l'essence sulfurée.
- b)* Extraction du glucoside ; identification.
- c)* Conclusions.

3. — Conclusions générales.

4. — Index bibliographique.

5. — Table des matières.

1. — Etude de la Moutarde noire.

a) Historique.

La Moutarde noire, *Brassica nigra* Koch, *Sinapis nigra* L., fournit à la matière médicale sa semence. Elle appartient à la flore asiatico-européenne.

La semence de Moutarde noire était connue dans l'Antiquité (1).

Utilisée d'abord comme condiment, on l'a employée ensuite comme remède externe (2).

CHARLEMAGNE régla sa culture en 812 ; culture qui se généralisa par la suite en Europe. PORTA, NICOLAS LE FÉBURE et finalement BOERHAVE (3) envisagèrent plus spécialement la production d'essence à partir de la graine de moutarde et entreprirent l'étude de ses propriétés.

THIBIERGE (4) trouva du soufre dans l'essence.

La nécessité d'addition d'eau aux semences de moutarde, en vue de l'obtention d'essence, ne fut reconnue

(1) GILDEMEISTER et HOFFMANN. — *Les huiles essentielles*, traduction de LALOUE, I, 129, 1912. Les renseignements bibliographiques donnés ci-dessous, jusqu'à THIBIERGE, ont été empruntés à cet ouvrage.

(2) THEOPHRASTII ESERII. — *Opera, quæ supersunt, omnia* ; édition WIMMER, 109, 1866.

DIOSCORIDIS. — *De materia medica libri quinque*, dans KÜHN SPRENGEL, *Medicorum græcorum opera quæ exstant*, vol. 1, 52, 191, 293, 1829.

(3) BOERHAVE. — *Elementa chemiæ, quæ anniversaria labore docuit in publicis privatisque scholis* ; *Lugduni Batavorum*, 1732.

(4) THIBIERGE. — *Examen analytique de la graine de Moutarde noire* ; *Journ. de Pharmacie*, XX, 439, 1819.

qu'en 1825 par GLASER (1); puis par BOUTRON et ROBIQUET, ainsi que par FAURÉ (2) et GUIBOURT.

DUMAS et PELOUZE (3) firent l'analyse élémentaire de l'essence de moutarde et découvrirent la combinaison de celle-ci avec l'ammoniaque.

BOUTRON et FRÉMY (4) préparèrent la myrosine et démontrèrent que la formation d'essence était due à l'action de ce ferment.

Le glucoside (myronate de potasse, sinigrine, sinigroside d'après la Nomenclature actuelle) fut découvert par BUSSY (5), qui l'appela *myronate de potasse*, le considérant comme le sel de l'acide myronique et qui, simultanément avec ROBIQUET (6), détermina ses propriétés physiques et l'action des réactifs.

La constitution chimique fut établie par WILL (7), qui, en même temps que WERTHEIM (8) annonça que l'essence de moutarde était formée de sulfocyanure d'allyle. LUDWIG et LANGE (9) confirmèrent l'existence de la sinigrine et son dédoublement, ainsi que WILL et KÖRNER (10).

(1) GLASER. — Einige Versuche über das flüchtige Princip der Cruciferen ; *Repert. für d. Pharm.*, [1], XXII, 102, 1825.

(2) FAURÉ. — Sur les semences de Moutarde noire ; *Journ. Pharm. Chim.*, XVII, 299, 1831.

(3) DUMAS et PELOUZE. — Mémoire sur l'huile essentielle de Moutarde noire ; *Ann. Chim. Phys.*, [2], LIII, 181, 1833.

(4) BOUTRON et FRÉMY. — Nouvel examen des semences de Moutarde noire et blanche ; *Journ. Pharm. Chim.*, [2], XXVI, 48, 1840. — Note sur les huiles volatiles de moutarde et de raifort ; *Journ. Pharm. Chim.*, [2], XXVI, 112, 1840.

(5) BUSSY. — Mémoire sur la formation de l'huile essentielle de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [2], XXVI, 39, 1840.

(6) ROBIQUET. — Notice sur l'huile volatile de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [2], XXVI, 116, 1840.

(7) WILL. — Untersuchungen über die Constitution des ätherischen Oels des schwarzen Senfs ; *Ann. der Chemie und Pharm.*, *Lieb. Ann.*, LII, 1, 1844.

(8) WERTHEIM. — Ueber der flüchtige Oel der Alliaria off. ; *Lieb. Ann.*, LII, 52, 1844.

(9) *Zeitsch. f. chemie und Pharm.*, III, 430 577, 1860.

(10) Zur Kenntniss der Bildung des Senföls aus dem Samen des schwarzen Senfs ; *Lieb. Ann.*, CXXV, 257, 1863.

En se basant sur la formation artificielle de l'essence de moutarde par action du sulfocyanure de potassium sur l'iodure d'allyle, d'après ZININ (1), ainsi que d'après BERTHELOT et DE LUCA (2), on fut amené à considérer cette essence comme un des éthers de l'acide thiocyanique. CESER (3) fit remarquer que les éthers de l'acide thiocyanique présentent des propriétés tout autres.

HOFMANN (4) émit l'hypothèse que, dans les combinaisons thiocyaniques, le carbone du radical hydrocarboné est lié au soufre, tandis que dans les combinaisons isothiocyaniques il est uni à l'azote.

BILLETER (5), ainsi que GERLICH (6), trouvèrent la véritable constitution de l'essence de moutarde qu'ils considérèrent comme un éther de l'acide isomère isothiocyanique ; ils démontrèrent que, dans la réaction utilisée dans la synthèse précédente, il se forme du sulfocyanure d'allyle ou thiocyanallyle, qui, sous l'influence de la chaleur se transforme en isothiocyanate (isosulfocyanate) d'allyle, son isomère.

GADAMER (7) a étudié la sinigrine dans une longue série de publications,

Le premier travail est une étude très approfondie des

(1) Ueber die künstliche Bildung von ätherisch m Senföl ; *Journ. für prakt. Chem.*, LXIV, 504, 1855.

(2) Notice sur la production artificielle de l'essence de moutarde ; *Comptes rendus de des Sciences*, XLI, 21, 1855.

(3) CESER. — Zur Metamorphose des Senföls ; *Lieb. Ann.*, CXXXIV, 7, 1865.

(4) Ueber die dem Senföl entsprechenden Isomeren der Schwefelcyanwasserstoffäther ; *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, I, 25, 1868.

(5) Ueber organische Sulfocyanverbindungen ; *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, VIII, 464, 1875.

(6) Ueber Isopropyl und Allylthodanür ; *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, VIII, 650, 1875.

(7) Ueber die Bestandteile des schwarzen und des weissen Senfsamen ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 44 à 114, 1897.

Ueber die Sinapinsäure ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 570, 1897.

Ueber den Ursprung des Allylsenföles aus der Wurzel von *Cochlearia armoracia* ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 577, 1897.

propriétés du glucoside auquel GADAMER attribue, pour le produit cristallisé, la formule :



alors que WILL et KÖRNER admettaient pour la sinigrine cristallisée, la formule :



Il montra ainsi que le dédoublement se faisait bien avec fixation d'une molécule d'eau. Cette fixation d'une molécule d'eau déterminée par la présence du ferment, la myrosine, est la cause de la décomposition du glucoside suivant une réaction chimique dont on peut écrire la formule :



Il se fait d'ailleurs des réactions secondaires qui déterminent la présence fréquente de cyanure d'allyle et de sulfure de carbone dans l'essence. Ainsi le contact prolongé avec de l'eau, ou, dans l'industrie, avec le cuivre des appareils distillatoires, amène la formation de cyanure d'allyle avec perte de soufre.



GADAMER a constaté qu'en tube scellé, à une température de 100 à 105°, en présence d'eau, il s'en produisait d'ailleurs une quantité appréciable ; le sulfure de carbone se produit aussi lorsqu'on agite pendant longtemps l'essence de moutarde avec de l'eau.

Cet auteur a remarqué, en outre, que le sulfate acide de potasse formé pendant la réaction devient un obstacle à la poursuite de cette dernière lorsqu'on fait agir la myrosine sur la sinigrine pure ; le rendement en essence serait accru si l'on neutralise par un alcali ou par le carbonate de calcium. Toutefois, l'addition d'alcali ou même de carbonate de calcium peut agir d'une façon

inverse si, au lieu d'opérer sur des solutions aqueuses de glucoside, on étudie la formation de l'essence sur la poudre de moutarde elle-même.

**b) La Moutarde noire dans les diverses
Pharmacopées.**

La Moutarde noire est d'un usage si général que les Pharmacopées de tous les pays la mentionnent et lui consacrent des articles, en tant que semence, poudre, sinapisme, essence.

La reproduction de ces articles serait fastidieuse et nous n'indiquerons que les points essentiels qui nous en paraissent devoir être retenus, en particulier ceux qui portent sur le dosage de l'essence susceptible d'être libérée par la graine.

Ce dosage comporte un certain nombre d'opérations préalables : on libère d'abord l'essence par une macération, au cours de laquelle la myrosine dédouble le glucoside ; on entraîne ensuite par distillation l'essence ainsi produite et on la reçoit dans une solution ammoniacale, ce qui détermine la formation de thiosinamine ou allylthiourée.

Les opérations finales du dosage peuvent ensuite beaucoup varier suivant les auteurs ; elles sont en fait assez nombreuses et ne sont d'ailleurs pas toutes officielles.

Certains auteurs ont proposé de recueillir et peser la thiosinamine $S = C \begin{matrix} \swarrow NHC^3H^5 \\ \searrow NH^2 \end{matrix}$; tels sont DIETERICH et JORGENSEN.

Dans d'autres procédés, on estime l'essence par un dosage pondéral, soit à l'état de sulfure d'argent (DIETERICH), soit à l'état de chlorure d'argent (PENAU).

La méthode de dosage employée le plus communément est celle qui consiste à transformer le soufre de la thiosin-

namine en sulfure métallique par addition d'une quantité connue de solution décimale d'azotate d'argent et à titrer à l'aide d'une solution de sulfocyanate d'ammoniaque en présence d'acide azotique, la quantité d'argent non combinée à l'état de sulfure. Par un calcul simple on détermine la quantité d'essence dégagée par la quantité de poudre de graines de moutarde traitée. Cette méthode est celle qu'a préconisée GADAMER et que la Pharmacopée française a adoptée.

On a voulu aussi titrer volumétriquement par la méthode cyano argentimétrique de DENIGÈS, en vue d'opérer toujours en milieu ammoniacal, c'est le procédé de RÆSER.

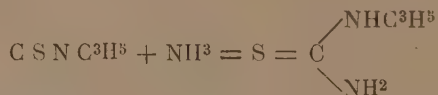
Tout récemment enfin, deux auteurs, MORVILLEZ et MÆSEMÆCKER, ont proposé de doser l'allylsénèvol dégagé par distillation, après formation d'allylthiourée, par une méthode iodométrique et en milieu acide.

Nous indiquerons encore une curieuse méthode de dosage de l'allylsénèvol, établie par MANSIER, méthode calorimétrique basée sur la mesure de la chaleur dégagée par la formation de l'allylsénèvol, et la méthode volumétrique de GRÜTZNER, établie sur un dosage d'acide sulfurique.

On trouvera un peu plus loin quelques détails sur les méthodes que nous venons d'énumérer en n'en donnant pour chacune que la caractéristique essentielle.

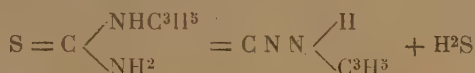
Rappelons que le principe du dosage de la méthode titrimétrique est dû à E. DIÉTERICH (1) et que les réactions qui s'effectuent sont les suivantes :

Il y a d'abord formation de thiosinnamine par action de l'ammoniaque sur le sénèvol.



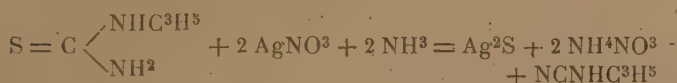
(1) Helfenberger Annalen, 59, 1886.

puis cette dernière est scindée par le nitrate d'argent en solution ammoniacale et donne naissance à de l'allylsénamide et à de l'hydrogène sulfuré :



l'hydrogène sulfuré réagit sur l'oxyde d'argent et le convertit en sulfure Ag^2S .

La réaction finale peut s'exprimer :



Exposé succinct des méthodes d'essai de la semence de Moutarde noire dans les différentes Pharmacopées.

Pharmacopée française (1) — La méthode de dosage de l'allylsénévol susceptible d'être dégagé des graines de moutarde est celle prescrite par le Codex de 1908, améliorée par les modifications mentionnées aux suppléments de 1920 et de 1926. Elle consiste essentiellement à libérer, par une macération, l'essence que peuvent donner 5 grammes de farine ; à enlever cette essence par distillation en présence d'alcool et d'huile d'olives et à transformer l'allylsénévol $\text{C}^3\text{H}^5\text{NCS}$ en thiosinamine par action de l'ammoniaque. La liqueur ammoniacale est additionnée d'un volume connu de solution d'azotate d'argent décimorale, prise en excès, qui donne du sulfure d'argent et on titre la quantité d'argent résiduel, non combiné, par une solution de sulfocyanate d'ammoniaque normale au cinquième.

Tenant compte des publications faites au sujet de la durée de la macération, le Codex français a ramené la durée de macération qui était de 6 heures, dans l'édition

(1) Edition de 1920, page 428 ; supplément de 1926, page 80.

de 1908, à *une* heure ; puis il a augmenté la quantité de volume de distillat à recueillir en vue d'éviter toute perte d'essence sulfurée restant dans le résidu de distillation, et il a essayé finalement de rendre la méthode plus sensible en indiquant d'opérer le titrage avec des solutions diluées de sulfocyanate d'ammoniaque normal au cinquantième. Le titre minimum de la poudre de moutarde doit être de 0 gr.,70 pour 100 grammes en allylsénévol.

Mentionnons que le **Formulaire des Hôpitaux militaires français** prescrit, dans son édition de 1918, d'opérer le titrage de l'allylsénévol sur une poudre de moutarde ayant subi une macération aqueuse de *quatre* heures, et, qu'il exige que la richesse minima soit de 0 gr.,80 pour 100 gr.

Toutefois nous devons signaler que, dans les hôpitaux militaires, on n'emploie que la farine de moutarde déshuillée et par conséquent plus riche en principe actif que la poudre de moutarde ordinaire qui contient environ 30 p 100 de son poids d'huile.

Pharmacopée allemande (1). — La différence qui existe entre la méthode de dosage de la pharmacopée française et celle de la pharmacopée allemande réside exclusivement dans la durée de macération qui est de *deux* heures dans la pharmacopée allemande et qui est faite avec de l'eau ayant une température de 20° à 25°. La richesse exigée, en principe actif, est la même et le dosage s'effectue de la même façon.

Pharmacopée belge (2). — La pharmacopée belge ne formule pas d'exigence pour le titre ; mais elle indique que, pour faire la poudre de moutarde, il faut mélanger trois parties de semences de Moutarde noire pulvérisées

(1) Deutsches Arzneibuch, VI; 622, 1926.

(2) Edition 3, 211, 1906.

avec une partie de poudre de semences de Moutarde blanche.

On obtient ainsi une poudre riche en ferment. Par rapport à la farine de Moutarde noire du Codex français, la quantité de glucoside est diminuée et celle de ferment augmentée.

Pharmacopée des Etats-Unis (1) — La pharmacopée des Etats-Unis exige une richesse d'au moins 0,6 p. 100. Elle prescrit d'extraire l'essence par distillation après une macération d'une durée de *deux* heures. Tout le reste du dosage se fait comme celui du Codex français.

Pharmacopée japonaise (2). -- La méthode de dosage de l'allylsénévol indiquée par la pharmacopée japonaise est celle de la pharmacopée allemande. Dans le titrage, on ne doit pas employer moins de 7 cm³,2 de solution de sulfoeyanate d'ammoniaque décinormale, ce qui correspond à une richesse d'environ 0,70 p. 100.

Pharmacopée suisse (3). — La pharmacopée suisse prescrit de titrer l'essence par un dosage pondéral à l'état de sulfure d'argent Ag²S. Elle fait extraire l'essence par distillation d'une macération aqueuse *d'une heure* faite à une température de 25° à 30°. Pour être officinale une poudre de moutardé doit titrer au moins 0,80 p. 100 d'allylsénévol.

Les essais indiquées par les pharmacopées anglaise, autrichienne, espagnole, hongroise, italienne, portugaise, norvégienne, ne prescrivent rien de particulier au sujet du dosage de l'essence sulfurée de l'essence de semences de Moutarde noire.

(1) 334, 1926.

(2) Fourth edition, 356, 1922.

(3) Pharmacopée suisse ; édition française, page 406, 1907.

Nous sommes donc obligé de conclure, après l'examen des pharmacopées des pays étrangers, que les quantités minima d'allylsénévol que doivent fournir les semences de moutarde varient avec les exigences des pharmacopées des différents pays et nous estimons qu'il est intéressant de rappeler ici que, dans le dictionnaire de WÜRTZ (1), on trouve diverses analyses dont les résultats sont très éloignés les uns des autres. C'est ainsi que BOUTRON et ROBQUET estiment à 0,2 p. 100 la richesse en allylsénévol d'une poudre de moutarde, alors que ASCHOFF trouve 0 gr.,55, HESS 0,80, HOFFMANN 1,2, DIETERICH 1 et RAQUET 0,8 à 1,3 p. 100.

Ces différences de richesse en principe actif peuvent évidemment tenir à la nature de la drogue examinée, mais aussi certainement, aux méthodes de dosage employées et cela explique la profusion de recherches tendant à établir une méthode uniforme et sûre, dont l'emploi devrait avoir pour corollaire l'exigence d'un minimum déterminé de principe actif dans la poudre destinée à l'usage médical.

Les plus importantes de ces recherches doivent être résumées, car on comprendra mieux les raisons qui ont fait inscrire dans les différentes pharmacopées les exigences que nous venons d'y voir mentionnées.

c) Résumé des travaux antérieurs sur le dosage de l'essence produite par les graines de Moutarde noire.

Reprenant les travaux de BUSSY et de ses continuateurs, GADAMER (2) a institué une longue série de recherches sur le sinigrósíde.

Il a d'abord extrait le myronate de potasse (sinigrine,

(1) WÜRTZ. — Dictionnaire, tome 1, 358, 1869.

(2) GADAMER. — Sinigrín, das Glucosíd des schwarzen Senfs ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 58, 110, 374, 1897.

sinigroside) de la Moutarde noire par un procédé sur lequel nous aurons d'ailleurs longuement à revenir et qui sera exposé dans le chapitre concernant l'extraction de ce glucoside. Il a étudié la décomposition hydrolytique de la sinigrine sous l'influence de son ferment spécifique, la myrosine et il a formulé des conclusions dont nous avons donné l'essentiel dans la partie historique de cette thèse. Il a, en outre, institué la méthode de dosage de l'allylsénévool que la Pharmacopée française, à part quelques variantes, a rendue officielle dans notre pays.

Immédiatement après la publication de GADAMER, d'autres chimistes apportèrent leur contribution à l'étude du dosage de l'essence provenant de l'hydrolyse du myronate de potasse.

GRÜTZNER (1) a proposé une méthode de dosage basée sur la transformation de l'isosulfocyanate d'allyle en thio-sinnamine, par action du chlorhydrate d'ammoniaque en solution alcoolique ; l'amine obtenue est oxydée par addition de bioxyde de sodium en solution chlorhydrique ; il se fait de l'acide sulfurique libre. Cet acide sulfurique peut alors être dosé : soit par pesée à l'état de sulfate de baryum soit par volumétrie en précipitant l'acide sulfurique par le chlorure de baryum ; le sulfate formé, traité par fusion avec du carbonate neutre de sodium, fournira du carbonate de baryum, qu'on pourra ensuite décomposer par addition de solution titrée d'acide chlorhydrique.

DIETERICH K. (2) préfère peser le sulfure d'argent produit par action de la solution d'azotate d'argent sur la thio-sinnamine, plutôt que de titrer l'excès de solution d'azo-

(1) GRÜTZNER. — Sur le dosage de l'essence de moutarde ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXVII, 185, 1899. *Bull. de la Soc. chim. de France*, [2], 956, 1899.

(2) DIETERICH. — Zur Bestimmung des Senfsamens und der Senfpräparate ; *Pharm. Zeitung*, 767, 1900 ; commentées dans le *Pharm. Centralhalle*, 600, 1900. — Sur le dosage en principe actif dans les semences de moutarde et les préparations de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [13], 31, 1901.

tate d'argent par une solution de sulfocyanate d'ammoniaque. Son procédé est celui qui a été adopté par la Pharmacopée suisse dans son édition de 1907.

Voici comment on opère : l'essence, libérée par macération, est reçue dans une solution ammoniacale et transformée ainsi en thiosinamine ; l'addition de solution d'azotate d'argent détermine la formation de sulfure d'argent Ag_2S . Le précipité de sulfure d'argent est laissé en repos pendant 12 heures ; on le recueille ensuite par filtration, on le dessèche, et on le pèse. En multipliant le poids du sulfure d'argent par le coefficient convenable, on obtient le poids d'allylsénévol contenu dans la prise d'essai.

DIETERICH, après avoir mis au point ce procédé de dosage, constata que, pendant la dessiccation du précipité de sulfure d'argent, il se dégageait de l'hydrogène sulfuré, ce qui était une cause de perte de soufre et amenait une erreur dans les résultats. Il conseilla donc de laver le précipité de sulfure d'argent avec de l'eau distillée, puis, avec de l'alcool et finalement avec de l'éther ; de cette manière, la méthode donna des résultats satisfaisants.

Ce même auteur, après avoir fait une série d'expériences, estima que la moyenne de un gramme d'allylsénévol pour cent grammes de poudre était celle des produits de bonne qualité.

RÆSER (1), après avoir essayé les différents procédés indiqués par ses devanciers pour le dosage de l'essence sulfurée, a proposé d'opérer le titrage de l'allylsénévol, après transformation en thiosinamine et addition de solution de nitrate d'argent, par la méthode cyano-argentimétrique établie par DENIGÈS. Il trouve de sérieux avantages à opérer sans changer la réaction alcaline de la solution, alors que, dans la méthode de GADAMER, on

(1) RÆSER. — Sur le dosage de l'essence de moutarde; *Journ. Pharm. Chim.*, [15], VI, 361, 1902.

transforme la réaction alcaline, due à l'ammoniaque, en réaction acide par addition d'acide azotique.

Cet auteur indique, en outre, qu'une macération d'une durée de deux heures suffit à libérer l'essence sulfurée de la poudre des graines mises en réaction.

Sans envisager spécialement l'essence, LEACH (1) étudie la composition de la farine de moutarde; il nous paraît opportun de donner ici ses résultats.

LEACH a analysé la farine, l'enveloppe des graines et les graines entières. Il donne les résultats suivants p. 100 :

	Azote total	Cellulose	Matières réductrices en glucose
Farine.....	9,09	3,24	0,37
Enveloppes de graine.	4,14	18,11	4,27
Graines entières.....	9,09	8,05	2,40

L'examen chronologique des communications faites sur les essais de la farine de moutarde nous conduit à la curieuse méthode calorimétrique préconisée par MANSIER (2).

Nous citons cette méthode pour mémoire, car elle ne semble pas pouvoir rentrer dans le domaine de la pratique usuelle du laboratoire. Elle est basée sur la mesure de la chaleur dégagée par la réaction de formation de l'allylsénovol. Mais il est très probable que, pendant la formation de l'allylsénovol, la quantité de chaleur dégagée n'est pas imputable seulement à la réaction de formation de l'essence et qu'il se passe des réactions secondaires, le milieu étant très complexe.

JORGENSEN (3) a établi une méthode de dosage par pesée

(1) LEACH — Zusammensetzung und Verfälschung von Senfpulver ; *Zeitsch. für Untersuchungen der Nahrungs und Genussmittel*, IX, 229, 1905.

(2) MANSIER. — Essai calorimétrique de la farine de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [23], VI, 565, 1906.

(3) JORGENSEN. — Sur la falsification de la moutarde ; *Ann. des falsific.*, II, 372, 1909. — Sur l'âcreté et la toxicité des graines et des tourteaux de Crucifères ; *Ann. des falsific.*, XIX, 454, 1926.

de la thiosinamine et dosage de l'azote que contient l'allylthiourée. Il pèse la thiosinamine, produite par action de la solution ammoniacale sur l'essence entraînée par un courant de vapeur d'eau, après avoir évaporé au bain-marie dans une capsule de platine tarée la dissolution ammoniacale de thiosinamine et après avoir achevé l'évaporation de l'extrait sirupeux par un séjour d'une heure à l'étuve à 100°. Du poids de thiosinamine, on peut déduire la teneur en allylsénèvol en multipliant le chiffre trouvé par le coefficient convenable. Sur l'allylthiourée on titre ensuite l'azote par la méthode de KJELDAHL.

L'intérêt de la méthode est qu'elle est simple et permet de donner la thiosinamine en nature, ce qui permet de l'examiner. Le dosage de l'azote permet, en outre, de différencier les différentes espèces de thiosinamines et de reconnaître les falsifications dans les tourteaux de colza.

DOMERGUE (1) tente de modifier l'appareillage destiné à la distillation. Considérant que des pertes d'essence pouvaient se produire lorsqu'on utilisait un ballon fermé par un bouchon de liège, traversé par le tube de verre solide du réfrigérant de l'appareil distillatoire, il propose d'adopter, pour opérer la distillation de l'allylsénèvol dégagé par la macération de graines de moutarde, un ballon de verre à col rodé et à capuchon de verre joignant à émeri et lui-même solide du réfrigérant par une soudure de verre.

Disons tout de suite que, si l'appareil proposé est d'un emploi commode, la fermeture au liège fin donne des résultats satisfaisants.

LENORMAND (2) propose une amélioration au procédé de dosage du Codex français de 1908 en conseillant de recueillir

(1) Titrage de la farine de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [4], VII, 494, 1911.

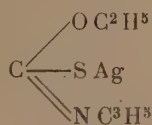
(2) Procédé du Codex pour le titrage de la farine de moutarde ; *Répert. de Pharm.*, 493, 1911.

davantage de liquide contenant l'allylsénèvol lors de la distillation. Cette observation a été prise en considération par le supplément du codex (1920) qui prescrit de recueillir 75 *centicubes* de distillat au lieu de 50 cm³. L'auteur estimait, en effet, que les différences de richesse en allylsénèvol pouvaient n'être que le résultat du non entraînement de la totalité de l'essence lors de la distillation, lorsqu'on ne recueillait que 50 centimètres cubes.

Cette modification au dosage est aussi admise par BRIOUX (1).

BRIOUX, se basant sur les travaux de FAURÉ qui avait étudié les influences de la température sur la quantité d'essence produite par une macération de graines de moutarde, annonça que le maximum de production d'essence avait lieu vers 40 degrés, qu'il fallait distiller après *une heure* de macération faite en présence de fluorure de sodium et qu'il fallait recueillir beaucoup plus de 50 centimètres cubes de distillat. Ce même auteur approuva l'addition d'alcool à la macération en vue d'entraîner l'essence et émit l'hypothèse qu'il devait se faire une décomposition de l'essence, ce qui empêchait d'avoir des résultats satisfaisants.

Dans ses diverses publications, BRIOUX a, en outre, indiqué que la méthode préconisée par le Codex français donnait des résultats trop faibles ; l'erreur serait de 10 p. 100 en moins et elle serait le résultat de la formation d'un sel étherique d'argent :



(1) BRIOUX. — L'essence de moutarde des tourteaux de Crucifères ; *Science agronomique française et étrangère*, 216, 1911. — *Ibidem*, 248, 1911. — Dosage de l'essence de moutarde dans les tourteaux des Crucifères et dans les farines de moutarde ; *Ann. de chim. analytique*, 6, 1912.

qui se forme à froid lorsqu'on fait agir la solution d'azotate d'argent décinormale sur la thiosinamine ; ce sel d'ailleurs ne serait pas stable à chaud.

Recherchant encore quelles pouvaient être les causes d'erreurs supplémentaires, BRIOUX a pensé qu'il y avait peut-être une action destructive de l'essence par des microorganismes et qu'il serait utile d'ajouter aux macérations un antiseptique susceptible de détruire ou d'annihiler les microorganismes. C'est pour cette raison qu'il conseillait d'ajouter du fluorure de sodium aux macérations

De plus, ce chimiste a fait la critique d'une méthode de dosage par le brôme ; il a été amené à établir un parallèle entre la méthode du Codex et la méthode de dosage par le brôme et il donne la préférence à la méthode officielle de la Pharmacopée française. Dans la méthode de dosage par le brômé, il y a oxydation de l'essence et production d'acide sulfurique que l'on peut titrer, mais l'essence de moutarde ne serait que partiellement oxydée et le coefficient de calcul permettant de passer du poids trouvé de sulfate de baryte au poids de l'essence n'est pas bien déterminé, puisque GÉRARD le fixe à 0,424 et VILLIERS à 0,505.

En somme, du travail de BRIOUX on peut retenir une chose trèsintéressante qui est la détermination de la durée optima de macération ; quant à l'action destructive des microorganismes, nous ne pensons pas que cette suggestion soit à retenir, l'essence de moutarde étant elle-même un antiseptique remarquable. Nous verrons plus loin que ce n'est sûrement pas aux microorganismes qu'il faut attribuer la différence de richesse entre les résultats fournis par une macération d'une heure et ceux fournis par une macération de six heures.

Comme BRIOUX, PENAU (1) conseilla de recueillir une

(1) PENAU. — Sur le dosage en allylsénévol des préparations de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [7], VI, 160, 1912.

grande quantité de distillat ; il indiqua de recevoir un volume de 90 centimètres cubes, il recommanda de faire plonger le tube adducteur dans la solution ammoniacale et de doser la quantité d'argent, qui n'était pas entré en réaction avec le soufre de la thiosinnanine, par pesée à l'état de chlorure d'argent.

On aurait ainsi un procédé sûr de dosage, car, d'après cet auteur, le procédé prescrit par le Codex de 1908 est « franchement mauvais ».

Nous ne discuterons pas cette méthode qui est fort séduisante en théorie, mais qui est pratiquement très longue à exécuter.

Avec BOUTRON (1) nous voyons le procédé de dosage de l'allylsénévol par pesée du sulfure d'argent reprendre la première place dans la liste des méthodes de dosage. D'après cet auteur, les résultats obtenus par cette méthode sont tous identiques à eux-mêmes dans les mêmes conditions. BOUTRON a ensuite tenté de déterminer à quels facteurs était due la diminution de richesse en allylsénévol dans les macérations prolongées, mais il n'a pu conclure et il a supposé, comme BRIOUX, que les pertes d'essence étaient dues à des microorganismes ou à la formation de sulfure de carbone (2).

Il conseilla (3) d'ajouter une petite quantité d'acide tartrique aux macérations de graines de moutarde ; BOUTRON pensait, en effet, que « l'acide tartrique ajouté libérerait de l'acide sulfurique du bisulfate de potasse formé pendant la réaction et qu'il agirait ainsi comme antiseptique indirect ». Il suggéra, en vue d'augmenter le rendement, de distiller l'essence produite par une macéra-

(1) BOUTRON. — Sur l'essai de la farine de moutarde ; *Bull. des Sciences pharmacol.*, [7], XIX, 365, 1912.

(2) BIRKENWALD. — *P. Zeitsch. Russland ; Journ. Pharm. Chim.*, XXIII, 457, 1891.

(3) D'après von SCHLICHT. — *Pharmaceutische Zeitung*, 1903.

tion de 10 grammes au lieu de n'opérer la distillation que de l'essence produite par une macération de 5 grammes et proposa d'admettre une limite d'humidité ne dépassant pas 2 p. 100. Il a remarqué, en effet, que les farines de moutarde perdent lentement leur richesse en essence sulfurée quand on les abandonne dans des récipients et il attribua cette perte à la décomposition fermentaire lente du myronate de potasse sous l'influence de la myrosine et de l'humidité contenue dans la poudre.

Contrairement aux opinions de PENAU et de BOUTRON, CARLES (1) donne la préférence à la méthode de la Pharmacopée française pour le dosage de l'essence de moutarde. Il estime qu'au bout d'une heure la combinaison organique sulfurée C^3H^5NCS se transforme en une nouvelle moins volatile, qui restera dans les queues de distillation. Cet auteur expose des considérations sur le procédé officiel et déclare l'addition d'huile utile et l'addition d'alcool indispensable à la bonne marche de la distillation. CARLES a tenté d'extraire davantage d'essence sulfurée, en acidifiant les macérations, comme l'avait indiqué BOUTRON, par de l'acide tartrique, mais ses expériences ont été négatives ; il a aussi essayé d'opérer le dosage sur 10 grammes au lieu de 5 grammes de poudre de graines de moutarde et les résultats n'ont pas été plus intéressants ; il a conclu, au contraire, qu'avec des farines très riches en essence sulfurée, il y aurait peut-être intérêt à réduire la prise d'essai à 4 ou même 3 grammes. A défaut de raisons chimiques, ce pharmacologiste propose de limiter à *une heure* la durée de la macération parce que toute moutarde qui n'abandonne pas son essence à bref délai est un mauvais médicament (2). Répondant aux objections

(1) CARLES. — Essai de la farine de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [7], VII, 438, 1913.

(2) CARLES. — La farine de moutarde du commerce, *Journ. Pharm. Chim.*, [7], VII, 535, 1913.

de BOUTRON sur le taux d'humidité des farines de moutarde, il indique que la moyenne d'humidité des poudres est de 7 pour 100, qu'il faut admettre et tolérer cette teneur en eau.

La richesse minima d'une poudre de moutarde étant fixée à 0,70 p. 100 d'allylsénèvol, en France, cet auteur fait remarquer que les marchands font des mélanges de poudres riches en essence avec des poudres pauvres en principe actif afin d'uniformiser la richesse de leurs produits en allylsénèvol. Il signale finalement que si le Codex adopte la macération d'une durée d'une heure, la méthode ne méritera plus de sérieux reproches.

Nous verrons plus loin, dans l'étude de la décomposition fermentaire du glucoside, les raisons chimiques, déjà signalées par GADAMER, qui ont fait adopter une macération d'une durée d'une heure.

MARGUERIT (2) incrimine le procédé de macération adopté par la Pharmacopée française et indique qu'il donne des résultats trop faibles quant à la richesse réelle en essence sulfurée des graines mises à macérer. Cet auteur a, en effet, pu remarquer que, seule, une macération hydroalcoolique d'une durée de six heures faite avec 20 cm³ d'alcool à 90° et 80 cm³ d'eau donnait des chiffres élevés. Il conclut de là que l'alcool facilite la formation de l'allylsénèvol et aide à l'entraîner lors de la distillation. Nous nous empressons de dire que nos expériences personnelles nous ont permis de constater que loin, de faciliter la formation de l'allylsénèvol, l'alcool a une action néfaste à sa production, en ce sens qu'il ralentit l'action du ferment ; c'est ce qui explique pourquoi les macérations hydroalcooliques prolongées donnent seules à la distillation beaucoup d'essence alors que les macérations hydroalcooliques d'une durée d'une heure en fournissent beaucoup moins.

(2) Sur le dosage en allylsénèvol des farines de moutarde ; *Thèse Doct. Univ. Pharm., Lille, 1913.*

MARGUERIT a d'ailleurs signalé dans sa Thèse qu'une macération aqueuse d'une heure suffit à libérer toute l'essence des graines mises à macérer. Il a, en outre, demandé que l'on fixât à un gramme pour 100 la richesse minima des poudres de semences de Moutarde noire. MARGUERIT, outre ces intéressantes remarques, a aussi aperçu l'utilité de l'addition de poudre de semences de moutarde blanche à la poudre de Moutarde noire en vue d'obtenir un rendement élevé en allylsénèvol. Quant aux habituelles critiques du matériel employé, elles portent sur l'appareillage et sur l'utilité du bain de glycérine qui est « coûteux, d'odeur désagréable », mais ces observations ne sont que de minime importance.

Après les travaux que nous venons de résumer est parue une publication de WEHRMANN, WEGENER, BRAUNWARTH et MEYER (1). Ces auteurs préconisaient la méthode allemande et donnaient une bibliographie considérable de la question (du dosage de l'allylsénèvol) en passant en revue beaucoup de publications antérieures.

Dès l'année 1912, RAQUET (2) avait remarqué que la durée de macération, nécessaire à la libération de l'essence sulfurée des graines de moutarde, avait beaucoup d'influence sur le rendement obtenu et que les macérations faites à une température un peu supérieure à celle du laboratoire favorisaient la production de l'allylsénèvol ; des essais que cet auteur avait effectués, il résultait, en outre, que fixer une durée uniforme à une macération aqueuse était impossible parce que la myrosine n'a pas la

(1) Vergleichende Untersuchungen über die Wertbestimmung von Samen sinapis, Spiritus sinapis, Oleum sinapis, und Charta sinapisata nach den verschiedenen dafür angegebenen Methoden ; *Arch. der Pharm.*, CCLIII, 306 à 327, 1915.

(2) RAQUET. — Dosage de l'allylsénèvol dans la farine de moutarde ; *Répert. de Pharm.*, [3], XXIV, 145, 1912.

Le dosage de l'allylsénèvol dans la Moutarde noire et le supplément du Codex de 1908 ; *Journ. Pharm. Chim.*, [7], XXII, 92, 1920.

même activité hydrolytique dans tous les échantillons de poudre de semences de Moutarde noire et que la production de l'essence atteint ainsi plus ou moins vite un maximum.

Cet auteur signala que, pour obtenir des farines de moutarde possédant la richesse de 0,70 p. 100 en allylsénèvol, exigée par la Pharmacopée française, il était nécessaire de faire macérer la drogue dans une solution hydro-alcoolique ; il basa son argumentation sur les faits expérimentaux suivants : 1° l'allylsénèvol est libéré de son glucoside en digestion alcoolique faible d'une façon plus constante qu'en macération aqueuse ; 2° il faut faire une macération hydro-alcoolique parce que, en milieu aqueux, la quantité d'essence développée atteint un maximum après 30 à 60 minutes, puis décroît pour devenir nulle, alors qu'en milieu alcoolique la quantité d'essence développée reste la même, sans que des pertes se produisent, pendant les heures qui suivent la libération du produit.

RAQUET propose donc de faire macérer à froid pendant 6 heures la quantité de graines de moutarde prescrite par le Codex dans un liquide hydro-alcoolique (20 cm³ d'alcool à 90° et 80 cm³ d'eau distillée) ou bien, ayant constaté par ailleurs que l'influence d'une douce température était favorable à la production de l'essence, de faire durer seulement pendant une heure la macération hydro-alcoolique mais à la température de 35 degrés.

En réalité, la suppression de la macération aqueuse de 6 heures et son remplacement par une macération aqueuse d'une heure (suppl. du Codex, 1926) devait apporter le véritable remède aux inconvénients signalés par RAQUET. Nous avons eu l'occasion, au cours de nos expériences sur la Moutarde noire et de nos essais sur l'Alliaire, de constater, qu'en effet les macérations hydro-alcooliques permettaient de retrouver, après une longue macération,

la même quantité d'essence que celle dégagée au cours d'une macération d'une durée plus courte ; mais, comme nous l'avons dit plus haut, nous avons constaté, d'autre part, que dans les macérations hydro-acoologiques, l'alcool avait une action ralentissante considérable sur l'activité fermentaire qui aboutit à la mise en liberté de l'essence.

RAQUET proposa de porter le chiffre minimum de richesse en allylsénèvol de 0,7 à 0,9 p. 100 et il remarqua que dans le mélange d'azotate d'argent ammoniacal et de sénèvol, la réaction était complète après un séjour de une heure au bain-marie bouillant, ce qui permet de faire plus rapidement l'essai des farines de moutarde.

Un certain nombre d'auteurs ont pensé justement qu'on pourrait déduire de recherches faites sur la décomposition de l'allylsénèvol des indications utiles à une mise au point d'une méthode sûre de dosage.

KUNZ et KRAUSE (1) ont étudié les causes et la composition du précipité insoluble se formant dans l'essence de moutarde au cours de la conservation de cette dernière. Leurs conclusions ont été examinées par MOUSSERON dans sa thèse que nous résumerons plus loin.

LUCE et DOUCET (2), constatant que les opinions, tant au point de vue du mode de dosage, que de la durée et des conditions de macération, sont éminemment variables (3),

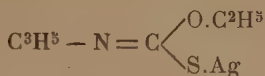
(1) KUNZ et KRAUSE. — Über die Ursache und Zusammensetzung der im Senfö (isosulfocyanallyl) entstehenden unlöslichen Ausscheidung ; *Arch. der Pharm.*, CCLIX, 16 à 33, 1921. *Bull. Soc. Chim. de France*, [47], XXX, 750, 1921.

(2) Etude de la méthode de dosage de l'allylsénèvol dans la farine de moutarde ; *Ann. des falsific. et des fraudes*, [6], XV, 161, 1922.

(3) Rappelons que VON SCHLICHT, dans le *Pharmaceutische Zeitung*, p. 184, 1903, conseillait de faire une macération de 16 heures, que BRIOUX prescrivait d'ajouter un antiseptique, que BOUTRON proposait d'additionner les macérations d'acide tartrique ; que CARLES, MARCUERIT, VUILLMIN, dans son article intitulé Senföbestimmung paru dans le *Apotheker Zeitung*, 187, 1904, proclamaient qu'une heure de macération suffisait à produire toute l'essence des graines mises en réaction.

se sont proposés d'examiner le bien fondé de certains points de la méthode de dosage officielle de la Pharmacopée française.

Ils se sont d'abord posé la question de savoir si le soufre de l'allylsénèvol est intégralement retrouvé sous forme de Ag_2S et si le précipité répond à la formule Ag_2S . Ils ont constaté, qu'en 24 heures, l'azotate d'argent ammoniacal réagit à froid sur de l'allylsénèvol pur, avec une erreur par défaut de 7 p. 100 environ, ce qui confirme les observations de BRIOUX, et de KUNZ et KRAUSE qui prétendent qu'il se forme un dérivé organo-argentique de formule :



ne contenant qu'un atome d'argent pour un de soufre, composé instable à chaud ; car, en opérant au bain-marie, avec un tube condenseur, on obtient un précipité de Ag_2S et les résultats trouvés sont sensiblement exacts.

LUCE et DOUCET ont aussi voulu connaître quelle était l'influence de la température sur la production de l'essence sulfurée et quelle était l'influence de la durée de la macération sur la libération de l'allylsénèvol. Ils ont trouvé que seule la macération d'une heure fournit le maximum d'essence ; ils ont constaté, en outre, que la quantité d'essence produite diminue avec l'élévation de la température de la macération (c'est ainsi qu'une macération de 6 heures faite à -3 degrés centig. fournit 0,89 p. 100 d'allylsénèvol et qu'une autre macération faite à $+41$ degrés centig. donne 0,48 p. 100). Ils admettent l'hypothèse de la formation d'une réaction secondaire donnant un composé moins volatil restant dans les queues de distillation. Ils conviennent d'ailleurs que, pour étudier cette réaction secondaire, il faudrait partir du glucoside pur.

LUCE et DOUCET ont finalement recherché quelles étaient

les conditions expérimentales les plus convenables pour que la réaction entre l'allylthiourée et l'azotate d'argent soit complète. Ils ont admis, à la suite de leurs expériences, qu'un intervalle de 24 heures entre les deux parties du dosage était suffisant pour que la réaction soit terminée.

MORVILLEZ et MÆSEMÆCKER (1) ont fait une critique des différents procédés de dosage préconisés par les différents auteurs.

Leur travail a porté sur la comparaison des résultats qui ont été trouvés :

1° Par la méthode de la Pharmacopée française (méthode de CHARPENTIER-VOHLARD) ;

2° Par la méthode pondérale de DIETERICH ;

3° Par la méthode volumétrique de DENIGÈS-RÆSER.

La conclusion de leurs expériences est que, quelle que soit la méthode employée, les résultats sont identiques.

MORVILLEZ et MÆSEMÆCKER, ayant remarqué, à la suite d'une série d'expériences, que la réaction de l'iode sur la thiosinnamine se faisait molécule à molécule, imaginèrent ensuite un procédé de dosage par iodométrie.

Ils ont comparé et essayé les trois méthodes citées ci-dessus et la leur, sur une même solution de thiosinnamine, obtenue par distillation et réception dans une solution ammoniacale de l'allylsénèvol dégagé par une macération de 10 grammes de farine de moutarde dans de l'eau, et ayant été amenée au volume final de 250 centimètres cubes.

Nous ne donnerons pas ici la technique du procédé de dosage par iodométrie parce que cette méthode est si

(1) Procédé iodométrique de dosage de la thiosinnamine ; comparaison avec les autres méthodes de dosage ; application ; *Journ. Pharm. Chim.*, [7], XXVIII, 442, 1923.

Nouveau procédé de dosage de l'allylsénèvol et étude comparée des divers procédés usités ; *Journ. Pharm. Chim.*, [7], XXX, 236, 1924.

séduisante, à cause de sa rapidité et de la facilité de visibilité du virage, que nous aurons l'occasion d'en donner la technique dans les essais comparatifs originaux que nous ferons plus loin.

Après les communications de MORVILLEZ et MOESEMÖCKER, les pharmacologistes pouvaient déjà orienter leurs recherches vers l'étude des conditions dans lesquelles s'effectue la macération et des réactions qui ont lieu au sein du liquide, car ces auteurs ont pu prouver, sur un même distillat, que des modes de dosage différents donnaient des résultats identiques. Il restait donc à étudier l'extraction de l'essence sulfurée.

COLOMBIER (1) proposa de rendre officielle, dans la Pharmacopée française, une durée de macération d'une heure, ce qui a d'ailleurs été prescrit par le supplément du Codex (1926) au moment même où COLOMBIER le proposait. Cette macération de graines de moutarde devra, d'après lui, être faite avec de l'eau sans addition d'antiseptique, ni de moutarde blanche, ni d'alcool qui retarde l'action du ferment. L'alcool sera ajouté seulement au moment de distiller pour entraîner l'essence sulfurée. Cet auteur a étudié aussi les réactions de transformation de l'essence en thiosinamine et celles produites par l'azotate d'argent ammoniacal.

Continuant ses critiques, COLOMBIER incrimina les dilutions du supplément du Codex (1926) qui ne sont que des améliorations apparentes. Il proposa de distiller davantage de liquide, de façon à avoir un volume final de 125 centimètres cubes au lieu de 100 centimètres cubes, et de titrer l'excès d'argent à l'aide d'une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale au lieu d'employer une solution de sulfocyanate d'ammoniaque normale cinquantième. Il estima finalement que le procédé du

(1) Etude du dosage de l'allylsénévol dans la farine de moutarde ; *Ann. des falsific. et des fraudes*, XIX, 160 à 169, 1926.

Codex était excellent ainsi modifié, car l'ensemble de toutes les erreurs : pesée, distillation, mesure, peut être de l'ordre de 1 p. 100. La seule incertitude de la méthode serait de recueillir par distillation un produit qui n'est pas forcément de l'allylsénèvol pur, bien qu'on le considère comme tel.

Les critiques formulées par COLOMBIER sur les dilutions prescrites par le supplément de Codex et que nous reprendrons très brièvement aussi, ont été formulées également par LASAUSSE (1), qui indique, en outre, que l'abaissement du titre en essence est un fait absolument général s'expliquant par la décomposition spontanée du sénèvol, ce qu'il se propose de démontrer.

Avec MOUSSERON (2), l'étude de la décomposition fermentaire du glucoside va être reprise. Cet auteur cherchera à doser exactement les quantités d'essence et de sucre libérées au cours de la réaction et étudiera l'action du bisulfate de potasse formé au sein de la macération.

Sa thèse se divise en plusieurs parties. Il signale d'abord les caractères micrographiques permettant de différencier les diverses sortes commerciales de Moutarde noire, en se basant sur un travail effectué par RENVERSADE (3),

Il indique, ensuite, quels sont les procédés de deshuilage de la poudre de semences de Moutarde noire utilisés dans l'industrie (trichloréthylène, tétrachloréthane, perchloréthylène), en faisant remarquer que le perchloréthylène jouit d'une action annihilante vis-à-vis de l'activité fermentaire de la myrosine. Puis il se pose la question de savoir

(1) Abaissement du titre en essence dans les préparations de Moutarde noire ; *Ann. des falsif.*, 275, 1927.

(2) MOUSSERON. — Recherches chimiques, physico-chimiques et pharmaceutiques sur *Brassica nigra* et son essence ; *Thèse pour obt. le diplôme supérieur de Pharm.*, Montpellier, juillet 1927.

(3) RENVERSADE. — Moutarde, Colza et Navettes, étude micrographique et chimique, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Lyon, 1913.

si l'action de la macération, telle qu'elle est comprise par le Codex, à une température voisine de $+ 20^{\circ}$, est suffisante pour libérer la totalité de l'essence et s'il n'y aurait pas, pendant le brusque passage de $+ 20^{\circ}$ à $+ 100^{\circ}$, pendant la période de chauffage précédant la distillation, formation d'une nouvelle quantité d'essence suivant un phénomène analogue à celui de la digestion brusque par la papaine (1).

Se basant sur ce qu'une distillation, suivant de très près (10 minutes) le début de la macération, donne déjà une certaine quantité d'essence, MOUSSERON conclut que le brusque passage de $+ 20^{\circ}$ à $+ 100^{\circ}$ permet à la réaction diastasique de s'effectuer partiellement. Il a opéré des dosages en deux temps, d'abord sous pression réduite, ce qui donne une partie de l'essence, puis à la température de 100 degrés ce qui fournit la partie complémentaire. Il indique que la température optima à atteindre pour faire dégager la totalité de l'essence des graines mises au contact de l'eau est de 70 degrés. Il en conclut que lorsqu'un cataplasme sinapisé ne donne pas de révulsion suffisante, ce peut être dû à une température trop peu élevée de préparation et d'application.

Cet auteur étudie ensuite les ferments contenus dans les graines de *Brassica nigra* et de *Sinapis alba*.

Il y a d'abord de l'invertine qui n'est détruite par chauffage que lorsque la température de $+ 93^{\circ}$ est atteinte, à cause du mucilage qui l'enrobe. Les recherches de HÉRISSEY et SIBASSIÉ (2) ont amené MOUSSERON à penser que le sucre dédoublable pouvait être du saccharose, du raffinose ou du stachyose. Le saccharose est le seul de ces 3 sucres qui ne donne pas de galactose par dédoublement ; la formation d'osazone et la recherche de l'acide mucique ont conduit l'auteur à croire à la présence de saccharose

(1) DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI. — Sur la digestion brusque par la papaine ; *C. R. Soc. Biol.*, LX, 68-69.

(2) HÉRISSEY et SIBASSIÉ. — *Journ. Pharm. Chim*, [7], XXX, 345,

dans les graines de moutarde, puis à l'isoler et à le caractériser. Nous avons constaté aussi qu'il existe du saccharose dans ces graines, à la suite de tentatives de dosage du sucre réducteur que nous avons essayé de mettre au point ; nous avons pu, d'ailleurs, isoler ce sucre des graines de Moutarde noire, lors des extractions du myronate de potasse que nous avons pratiquées.

D'après MOUSSERON, les graines de moutarde contiennent : de l'*invertine*, de l'*amylase*, de la *maltase*, de l'*émulsine*, de la *caséase*, de la *glycérophosphatase* et une *anaéroxydase*.

Après avoir ainsi déterminé quels étaient les ferments contenus dans les semences de *Brassica nigra*, MOUSSERON a étudié la réaction de formation de l'allylsénévol et les produits qui résultent de cette réaction d'hydrolyse, sur du myronate de potasse acheté dans le commerce et à l'aide de ferment qu'il a préparé.

Il a tenté de faire le dosage du glucose ; mais, au polarimètre la visibilité est nulle à cause de la formation de soufre, et quand on veut faire ce dosage à l'aide de liqueur cupro-potassique, il y a décomposition du myronate de potasse par l'alcali et par les déféquants. L'essai de dosage n'a pas été, en conséquence, poussé plus avant. L'auteur a proposé ensuite une méthode de micro-dosage de l'allylsénévol à l'aide d'un appareil spécial, de solution titrées diluées et de micro-burettes.

Puis il s'est proposé d'étudier l'influence du bisulfate de potasse sur la réaction diastasique myronate-myrosine ; l'influence de la température sur la formation de l'allylsénévol (la concentration en glucoside étant faible) ; l'influence de la viscosité sur la protection de la myrosine et sur l'hydrolyse du myronate de potasse ; l'étude de la loi d'action de la myrosine sur le myronate de potasse.

Il fait d'abord remarquer que la proportion d'essence dégagée et dosée ne représente pas le taux théorique ;

qu'à faible concentration en glucoside l'hydrolyse est totale et l'essence complètement produite, et qu'aux concentrations plus élevées du soufre échappe au dosage (observation basée sur celle de KUNZ et KRAUSE). Il attribue cette transformation de l'allylsénèvol à l'action du bisulfate de potasse qui possède, en outre, une propriété annihilante vis-à-vis de la myrosine. Cette formation de soufre peut, d'ailleurs, être empêchée par addition de soude ou de carbonate de calcium qui neutralisent l'acidité produite, ce qui permet d'atteindre le taux théorique à 3 p. 100 près.

GADAMER avait déjà étudié cette action du bisulfate de potasse et il proposait, lui aussi, d'ajouter du carbonate de calcium ou de la soude pour neutraliser l'acidité produite.

En étudiant l'influence de la viscosité, MOUSSERON a pu se rendre compte que son rôle protecteur était important et que c'était elle qui était cause du dégagement incomplet de l'essence. Il termine sa thèse par l'énoncé de deux lois que nous citons ici :

1° Pour les solutions très diluées, l'hydrolyse du myronate de potasse paraît suivre la loi des masses ;

2° Pour les plus fortes concentrations, elle n'est plus conforme à cette loi et paraît même suivre la loi inverse, la vitesse de l'hydrolyse diminuant à mesure que les proportions de glucoside augmentent.

*
* *

Au cours de ce résumé chronologique des nombreuses publications relatives au dosage de l'allylsénèvol de la graine de Moutarde noire, nous nous sommes efforcé de faire apparaître les points principaux de chaque travail ; nous avons de temps à autre formulé les remarques que nous autorisaient à faire nos recherches personnelles sur

le même sujet que nous développerons plus loin ; mais, auparavant, nous voulons indiquer aussi les documents bibliographiques relatifs à la myrosine et à l'extraction du glucoside.

d) Modes de préparation du ferment et du glucoside.

a) Ferment. — Myrosine.

Le ferment hydrolysant de la sinigrine est la myrosine. Nous citerons, d'après Bussy (1), le mode de préparation qui a été employé jusqu'à nous.

Cet auteur a obtenu la myrosine en faisant macérer de la poudre de semences de moutarde blanche dans de l'eau distillée froide, puis, après filtration, en évaporant la solution à une température n'excédant pas 40 degrés, jusqu'à consistance sirupeuse ; il précipitait la myrosine de cette solution, en ajoutant avec circonspection de l'alcool éthylique et le précipité, recueilli, était ensuite dissous dans de l'eau, filtré et régénéré de sa solution par évaporation du solvant.

b) Glucoside (myronate de potasse, sinigrine, sinigroside).

GADAMER (2) a donné pour ce corps le mode de préparation suivant :

« On traite de la poudre de semences de Moutarde noire déshuilée ou non par de l'alcool à 85° ou 90°, à deux reprises différentes, à chaud, par une fois et demie son poids d'alcool. On exprime. Ce traitement sépare les

(1) BUSSY. — Mémoire sur la formation de l'huile essentielle de moutarde ; *Journ. Pharm. Chim.*, [2], XXVI, 39, 1840.

(2) GADAMER. — Sinigrin, das glucosid des schwarzen Senfs ; *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 47, 1897.

matières résineuses et entraîne aussi une partie de la sinigrine. L'extrait alcoolique a une réaction acide, mais ne contient pas de combinaisons tanniques, comme son action sur le perchlorure de fer le montre. Le tourteau restant est mis à macérer, pendant 12 heures, avec trois fois son poids d'eau distillée froide. On passe, on exprime. Le résidu est repris encore, pendant deux heures, par le double de son poids d'eau distillée froide. On passe, on exprime de nouveau. Les liquides extractifs, après neutralisation par le carbonate de baryum, sont évaporés à consistance de sirop. Ce sirop brun clair contient la sinigrine et les substances mucilagineuses de la Moutarde noire. On le traite, deux fois, à chaud, par de l'alcool à 85°-90° qui dissout seulement le glucoside tandis que les parties mucilagineuses restent insolubles. On filtre, après 24 heures, et on concentre dans le vide à consistance de sirop épais. On fait cristalliser dans des vases plats, ou bien on traite, à chaud, par de l'alcool à 94° qui dissout la sinigrine, puis par refroidissement, la laisse cristalliser.

« La purification se fait en reprenant, par de l'alcool, à l'ébullition, la masse cristalline. Les cristaux de myronate de potasse obtenus sont traités par de l'eau, à chaud, en présence de noir animal... »

« Le noir animal fait diminuer le rendement en glucoside. »

GADAMER a obtenu 1,3 p. 100. Il mentionne qu'un rendement plus élevé semble difficile à atteindre.

Nous rassemblons ici, d'après ABDERHALDEN (1), un certain nombre de renseignements concernant le glucoside.

D'après KASTLE (2), ce corps ne peut être dédoublé par le sang, ni par aucun ferment animal (3).

(1) ABDERHALDEN — Sinigrin ; *Bi-chemisches Handlexikon*, Bd. 2 714, 1911.

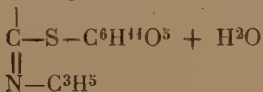
(2) KASTLE. — *Americ. Chem. Joarn*, 32, 372, 1904.

(3) CONNERMANN. — *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 113-168, 1906.

L'action des bactéries sur le sinigrósíde a été étudiée par Kossowicz (1).

Propriétés physiques et chimiques du myronate de potasse.

Le myronate de potasse, sinigrine, ou sinigrósíde



a pour poids moléculaire, sans eau de cristallisation, 397,27. Il contient :

30,21	p.	100 C
4,03	—	H
3,52	—	N
16,14	—	S
9,85	—	K
36,25	—	O

Il cristallise dans l'eau en petits prismes rhomboédriques et dans l'alcool en aiguilles blanches, brillantes, dures. Il fond à 126°-127° ; il donne, dans l'eau, une solution neutre et amère. Difficilement soluble dans l'alcool froid, faiblement dans l'alcool chaud, il est insoluble dans l'éther, le chloroforme, la benzine.

Sa solution aqueuse est active sur la lumière polarisée :

$$\alpha_D = -15^{\circ},13'$$

Nous verrons, par la suite, que le pouvoir rotatoire est, en réalité, plus élevé.

Sous l'action de la myrosine, le glucosíde se dédouble en allylsénévol, glucose et sulfate acide de potasse ; il se

(1) Chemisch. Centralblatt, II, 643, 1905.

produit, en outre, des réactions secondaires donnant du soufre libre, du cyanure d'allyle, du sulfure de carbone par action de l'eau sur le sénèvol formé.

Toutes les réactions ont été étudiées par GADAMER et ses continuateurs. Elles sont reproduites dans le Traité d'ABDERHALDEN.

*
* *

Après avoir rassemblé les documents bibliographiques essentiels, afférents à la question de la formation et du dosage de l'allylsénèvol, nous allons maintenant faire l'étude critique de ces divers documents, en nous appuyant sur nos recherches personnelles.

e) Etude critique du dosage de l'allylsénèvol.

Nous avons entrepris une étude critique des différents travaux se rapportant à la question du dosage de l'allylsénèvol libéré par une macération de graines de Moutarde noire. Pour ce faire, nous avons étudié les propositions qu'ils contenaient en les comparant aux prescriptions du Codex de 1908, modifié par ses suppléments de 1920 et de 1926.

Nous diviserons donc cette partie de notre thèse en trois paragraphes :

1° *Etude des conditions de macération nécessaires au développement de l'allylsénèvol ;*

2° *Etude de l'extraction par distillation de l'allylsénèvol formé ;*

3° *Etude du mode de dosage de l'allylsénèvol recueilli par distillation.*

L'étude des conditions de macération nécessaires au développement de l'allylsénèvol portera sur :

a) la recherche de la quantité de graines à mettre en œuvre pour avoir des dosages satisfaisants ;

b) l'influence de la durée de la macération en milieu aqueux ;

c) l'influence de la durée de la macération en milieu alcoolique ;

d) l'influence de la température ;

e) l'influence de l'addition de ferment étranger en milieu aqueux ;

f) l'influence de l'addition de ferment étranger en milieu alcoolique ;

g) l'action d'un acide faible sur la production de l'essence ;

h) l'action d'un neutralisant, de l'acidité qui peut se développer au sein des macérations, sur la production de l'essence.

i) Conclusions.

Nous examinerons au cours de l'étude de l'extraction par distillation de l'allylsénèvol formé :

a) l'utilité de l'addition d'alcool et d'huile ;

b) l'appareillage.

Nous étudierons, enfin, le procédé de dosage tel que le Codex le prescrit.

1° Etude des conditions de macération nécessaires au développement de l'allylsénèvol.

a) *Recherche de la quantité de graines à mettre en œuvre pour avoir des dosages satisfaisants.* — BOUTRON proposait d'effectuer la distillation de l'essence sulfurée sur 10 grammes de poudre de semences de moutarde ; CARLES examina les propositions de BOUTRON et constata que la quantité de 5 grammes prescrite au Codex était

suffisante ; il conseilla même de diminuer cette quantité, lorsqu'on opère sur des farines très riches en allylsénèvol, et de faire macérer 4 ou même 3 grammes de drogue.

Nous avons pu constater que la quantité de 5 grammes est suffisante, que la distillation se fait bien, que la mousse est ainsi beaucoup moins abondante qu'avec 10 grammes et que, si l'on augmente la quantité de poudre en réaction, il faut aussi augmenter celle de distillat, si bien que les conditions de dosage restent les mêmes.

Nous verrons dans l'étude de la décomposition hydrolytique du myronate de potasse les raisons chimiques qui nous ont amené à essayer de doser l'essence sulfurée, dégagée par une macération de un gramme de poudre de semences de moutarde ; mais, dès maintenant nous tenons à signaler que ces macérations donnent un chiffre égal, si ce n'est supérieur, d'essence sulfurée, aux macérations faites avec 5 grammes.

C'est ainsi :

Qu'en une heure de macération aqueuse 5 gr. de farine donnent 1 gr.,14 p. 100 d'allylsénèvol ;

Et qu'en une heure de macération aqueuse 1 gr. de farine donne 1 gr.,28 p. 100 d'allylsénèvol.

Mais les causes d'erreurs deviennent cinq fois plus grandes lorsqu'on opère le titrage final sur un gramme de poudre de semences au lieu d'opérer sur 5 grammes.

b) Influence de la durée de la macération en milieu aqueux. — L'influence de la durée de la macération de la poudre, en milieu aqueux, sur la production de l'allylsénèvol, a été constatée par tous les pharmacologistes dont nous avons résumé les mémoires.

Primitivement fixée à 6 heures (Codex de 1908), cette

durée a été ramenée à une heure par le supplément du Codex (1926).

On constate, en effet, que la quantité d'essence dégagée passe par un maximum au bout d'un certain temps de macération, puis décroît ensuite.

Nous avons obtenu, par exemple, sur cinq grammes, en macération aqueuse :

1^{er} échantillon de farine :

Après 6 heures		0,50	p. 100 d'allylsénèvol
—		0,50	p. 100 —
—		0,50	p. 100 —
Après 1 heure		0,57	p. 100 —
—		0,568	p. 100 —
—		0,568	p. 100 —

2^e échantillon :

Distillation suivant im-			
médiatement la macé-			
ration		0,54	p. 100 d'allylsénèvol
Après 1 heure		0,88	p. 100 —
—	...	0,889	p. 100 —
Après 4 heures		0,80	p. 100 —
Après 6 heures		0,78	p. 100 —

3^e échantillon :

Après 1 heure		0,99	p. 100 d'allylsénèvol
Après 3 heures		0,90	p. 100 —
Après 6 heures		0,84	p. 100 —

4^e échantillon :

Après 1 heure		0,97	p. 100 d'allylsénèvol
Après 3 heures		0,94	p. 100 —
Après 3 heures		0,85	p. 100 —

Tous ces dosages ont été effectués par la méthode prescrite par la Pharmacopée française, mais en employant une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décinormale ; nous expliquerons les raisons de cette

préférence à la solution normale cinquantième par la suite.

Ayant ainsi constaté, comme l'avaient fait déjà nos prédécesseurs, que la durée de la macération avait une influence sur la production de l'essence, nous avons estimé que la macération aqueuse d'une heure donnait des résultats supérieurs à ceux donnés par les macérations de 6 heures.

Nous avons voulu nous rendre compte ensuite de l'utilité des macérations hydro-alcooliques préconisées par certains auteurs en vue de conserver un titre élevé en allylsénévol.

c) Influence de la durée de la macération en milieu alcoolique.— RAQUET et ses continuateurs conseillaient *de* faire macérer la poudre de semences de Moutarde noire, en un milieu hydro-alcoolique composé de 20 centimètres cubes d'alcool à 90° et de 80 centimètres cubes d'eau distillée. Ils constataient de cette manière qu'en 6 heures le rendement en allylsénévol était augmenté par rapport à celui obtenu par simple macération aqueuse. COLOMBIER fit observer que l'alcool agissait en retardant l'activité fermentaire, puis protégeait l'essence produite contre les réactions parasites, ce qui permettait d'obtenir finalement un chiffre supérieur d'allylsénévol à celui produit par une macération aqueuse de même durée.

Nous avons remarqué, en effet, que l'alcool retarde l'action du ferment, car :

En *une heure*, nous obtenons :

en milieu aqueux.....	1 gr.,13	p. 100 d'allylsénévol
et en milieux alcoolique.....	0 gr.,99	p. 100

et en *six heures*, nous obtenons :

en milieu aqueux.....	1 gr.,01	p. 100 d'allylsénévol
et en milieu alcoolique	1 gr.,125	p. 100

Nos conclusions seront donc celles de COLOMBRIE : la macération hydro-alcoolique permet de *conserver* la quantité d'essence produite au bout d'un long temps, mais en une heure, la macération aqueuse donne un pourcentage *plus élevé* que la macération hydro-alcoolique.

d) Influence de la température en milieu aqueux. — Cette influence est discutée ; les auteurs ne sont pas du même avis à ce sujet. BRIOUX annonça que le maximum d'essence était produit à la température de 40 degrés ; LUCE et DOUCET ont trouvé des résultats allant en décroissant de — 3 degrés à + 41 degrés et finalement MOUSSERON indique qu'entre + 20 degrés et + 100 degrés, il se produisait de l'essence et que le maximum de production avait lieu à la température de 70 degrés.

Nous avons fait quelques expériences à ce sujet et nous estimons que, dans les limites de la température de la glace fondante à + 37 degrés (température d'une étuve), les résultats sont identiques en une heure.

Comme MOUSSERON, nous avons aussi constaté qu'une distillation suivant immédiatement la mise en macération donne un certain pourcentage d'essence.

En une heure de macération aqueuse, à la température de la glace fondante, 5 grammes de farine de moutarde fournissent.....	0,88 d'allylsénévol
En une heure, à 37 degrés, le rendement a été de.....	0,89
La distillation immédiate a fourni.....	0,54 p. 100

e) Influence de l'addition de ferment étranger en milieu aqueux. — MARGUERIT ayant dit que l'addition de ferment, sous forme de poudre de semences de moutarde blanche, provoquait la production du maximum d'essence, nous avons voulu vérifier si cette assertion était exacte pour toutes les poudres de semences de moutarde noire. Nous indiquerons, à ce sujet, que la poudre de semences de

moutarde officinale en Belgique est additionnée du quart de son poids de poudre de semences de moutarde blanche. Nos essais très nets et particulièrement significatifs dans le cas de la poudre de semences d'alliaire ne le sont plus du tout pour la farine de moutarde noire.

En une heure de macération, 5 gr.
de poudre de moutarde noire additionnée de 1 gr. de poudre de moutarde blanche, fournissent..... 1 gr.,15 d'allylsénèvol p. 100

En 6 heures de macération, ces
mêmes quantités de poudre en réaction, fournissent..... 1 gr.,09 p. 100

Et l'essai témoin fait avec 5 gr.
de poudre de moutarde noire, en une heure de macération aqueuse, donne un rendement de..... 1,15 p. 100

Cette expérience prouve qu'il existe suffisamment de myrosine dans la moutarde noire pour dédoubler le glucoside.

f) Influence de l'addition de ferment étranger en milieu alcoolique. — Nous avons pensé que, puisque l'alcool retardait la libération de l'allylsénèvol des graines subissant une macération hydro-alcoolique, il y aurait peut-être un avantage à ajouter du ferment, sous forme de poudre de semences de moutarde blanche, aux macérations de semences de moutarde noire faites en milieu hydro-alcoolique.

Nous avons constaté que l'addition d'une quantité massive de ferment, sous forme de 5 grammes de poudre de moutarde blanche, pour 5 grammes de drogue à examiner, créait un milieu fermentaire actif, malgré la présence de l'alcool, et qu'on obtenait ainsi des résultats constants.

On a obtenu :

En une heure de macération.....	0,86	d'allylsénèvol	p. 100
— trois — — —	0,858	—	—
— six — — —	0,86	p. 100	

Les deux actions de l'alcool, indiquées plus haut, consistent donc bien en une action de ralentissement de l'activité fermentaire, puis en une action de conservation de l'essence sulfurée produite.

g) Action d'un acide faible sur la production de l'essence.

— BOUTRON conseilla, d'après von SCHLICHT, d'additionner d'acide tartrique, dans la proportion de 2 gr. pour 100 gr., la poudre de moutarde en vue d'obtenir des résultats plus élevés quant à la production d'allylsénèvol. Il pensait que « ce corps agirait comme antiseptique indirect en libérant de l'acide sulfurique du bisulfate de potasse ».

CARLES signala, à ce propos, que l'addition d'un acide ne favorisait pas la production de l'essence sulfurée.

Nous avons cherché à savoir si l'addition d'un acide pouvait avoir une influence sur la production de l'allylsénèvol. Nous verrons plus tard, dans l'étude de la décomposition fermentaire du glucoside, que l'acidité a un rôle néfaste à la libération de ce corps.

Nos essais ont donné les résultats suivants :

Macération témoin d'une durée de 1 heure..	0,86	d'essence	p. 100
— contenant de l'acide tartrique			
(en une heure).....	0,79	—	—

L'acidité est donc nuisible à la marche de l'hydrolyse fermentaire.

h) Action d'un neutralisant. — GADAMER avait remarqué que lorsqu'on ajoute un alcali ou du carbonate de chaux à une solution de myronate de potasse, additionnée de son ferment spécifique, le rendement en allylsénèvol était

accru ; mais il signalait que l'alcali ou le carbonate de chaux pouvaient agir d'une façon inverse lorsqu'ils se trouvaient en contact avec de la farine de moutarde.

Nous avons constaté que l'addition de carbonate de calcium aux macérations de poudre de *Brassica nigra* ne donnait pas de résultats très nets.

En macération aqueuse d'une heure : 5 gr. de poudre de semences de moutarde noire, additionnés de 0 gr.,50 CO_3Ca , donnent un rendement de

0,79' d'allylsénévol p. 100

Dans le même temps, l'essai témoin, fait sans addition de CO_3Ca , a fourni

0,86 p. 100

i) *Conclusions.* — 1. La macération aqueuse d'une heure, de cinq grammes de poudre de semences de moutarde, comme la prescrit le Codex, donne des résultats satisfaisants.

2. Dans les macérations hydro-alcooliques, nous estimons que l'alcool retarde l'activité fermentaire et qu'il protège ensuite l'essence formée contre des pertes causées par des réactions secondaires.

3. Les farines de moutarde commerciales contiennent, en général, une quantité suffisante de myrosine et il n'est pas besoin de leur ajouter du ferment pour obtenir un chiffre élevé en allylsénévol.

4. La température de macération, dans les limites ordinaires de la température du laboratoire, n'a pas grande importance.

5. L'addition d'un acide nuit à la production de l'essence.

6. L'addition d'un alcali ou d'un neutralisant donne des résultats peu nets quant à la production d'essence sulfurée.

2° Etude de l'extraction par distillation de l'allylsénévól formé.

Ayant établi quelles sont les conditions expérimentales les plus favorables à la production de l'essence sulfurée, nous allons étudier quel est le meilleur moyen d'opérer la distillation pour entraîner l'essence produite par la macération.

Nous dirons tout de suite que, le bain de glycérine émettant des fumées gênantes et étant d'un prix de revient assez élevé, nous nous associons à la proposition de COLOMBIER conseillant de le remplacer par un bain de chlorure de calcium. Cette modification n'a d'ailleurs qu'une importance relative.

a) Utilité de l'addition d'alcool et d'huile. — Il arrive, avec certaines farines, que la distillation soit rendue difficile par la mousse abondante qui se forme au sein du ballon; l'addition d'huile, prescrite par le Codex, est donc absolument indispensable avec ces poudres et par prudence on devra en ajouter à chaque macération au moment de faire la distillation.

Nous avons fait des comparaisons entre les résultats trouvés par entraînement de l'essence dans l'alcool ou simplement par la vapeur d'eau produite par le ballon. Les résultats obtenus par ces deux procédés sont identiques. La macération qui n'a pas été additionnée d'alcool demande un temps de distillation un peu plus long.

Comme COLOMBIER, nous estimons que l'alcool sert simplement à faciliter l'extraction de l'essence sulfurée.

b) Appareillage. — Les observations qui ont été faites au sujet de l'appareillage ne sont que de peu d'importance. L'appareillage ne détermine pas de perte en essence, si, comme le Codex l'indique, on a soin d'opérer le bou-

chage du ballon contenant la macération avec un bouchon de liège fin, et si le réfrigérant n'est pas solidaire du ballon par un joint en croutchouc. Le meilleur procédé pour éviter toute perte d'allylsénèvol pendant la distillation consiste à faire usage d'un réfrigérant traversé par un tube de verre dont une extrémité recourbée traversera le bouchon de liège du ballon contenant la macération et l'autre extrémité, également recourbée et légèrement effilée, plongera dans la fiole jaugée contenant la solution ammoniacale.

Les auteurs, qui ont étudié la question du dosage de l'allylsénèvol, se sont souvent posé la question de savoir si le tube abducteur devait plonger ou non dans l'ammoniaque.

Nous n'avons pas constaté l'influence de ce dispositif sur la quantité de thiosinnamine produite. Nous avons toujours eu soin de faire plonger le tube abducteur dans la fiole jaugée, aussi loin qu'il était possible d'aller, pour que la goutte de liquide distillée affleure le niveau de la solution ammoniacale.

Nous estimons que les différences de richesse qu'on observe entre deux mêmes poudres lors de deux distillations différentes viennent ou de la durée de la macération ou d'une faible erreur de mesure au cours du titrage.

3° Etude du mode de dosage de l'allylsénèvol recueilli par distillation.

Très critiqué par les uns, loué par les autres, le procédé du Codex est un excellent procédé de dosage, ce que MORVILLEZ et MESEMÆCKER ont d'ailleurs démontré.

Les deux reproches que nous lui adresserons, après COLOMBIER, résident dans le lavage quadruple du précipité de sulfure d'argent avec de l'eau distillée et dans l'emploi de solution de sulfocyanate d'ammoniaque normale au cinquantième.

Si les lavages, répétés 4 fois, par 20 centimètres cubes d'eau distillée, apportent la certitude d'éviter toute perte de solution à titrer, ils diluent la liqueur dans laquelle doit être dosé l'argent résiduel et rendent ainsi plus difficile la visibilité du virage.

On peut d'ailleurs diminuer le volume d'eau distillée employée pour ces lavages sans influencer les résultats : C'est ainsi qu'en opérant, sur une même poudre de semences, dans les mêmes conditions de macération et de distillation, nous obtenons :

en lavant 4 fois avec 20 centimètres cubes d'eau distillée le précipité.....	0,927 p. 100
en lavant 4 fois avec 20 centimètres cubes d'eau distillée le précipité.....	0,93 p. 100
en lavant 2 fois avec 5 centimètres cubes d'eau distillée le précipité.....	0,93 p. 100
et sans laver le précipité.....	0,927 p. 100

Nous proposons donc de diminuer le volume d'eau distillée employée pour le lavage de Ag^2S .

La Pharmacopée française prescrit de titrer l'excès d'argent avec une solution de sulfocyanate d'ammoniaque normale au cinquantième, faite extemporanément. A la vérité, nous ne voyons pas bien l'avantage de cette modification à la méthode du Codex de 1908-1920. Cela a pour but de rendre le procédé très sensible ; mais les virages, qui, dans le cas où l'on emploie la solution décimale de sulfocyanate d'ammoniaque, se font à la goutte près, ne sont pas rendus plus nettement appréciables par ce procédé ; il n'y a aucun avantage, à notre avis, à employer cette solution diluée. Il suffit d'opérer le titrage à l'aide d'une burette de calibre petit permettant la lecture aisée du $\frac{\text{un}}{\text{dixième}}$ ou du $\frac{\text{un}}{\text{vingtième}}$ de centimètre cube.

Dans une partie de nos expériences nous avons suivi fidèlement la méthode du Codex et dans l'autre partie nous avons, après avoir fait la comparaison entre les deux

méthodes, employé une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale et opéré le lavage des précipités avec 2 fois 10 centimètres cubes d'eau distillée ; mais la formule de calcul indiqué par le Codex :

$$(1,98 - 0,0198 N)$$

se trouve ainsi modifiée et devient :

$$(1,98 - 0,099 N)$$

En résumé, nous dirons que le procédé de dosage de l'allylsénévol de la Pharmacopée française est un excellent procédé et qu'il y aurait simplement intérêt à éviter les dilutions et à titrer avec une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale, ce qui rend le virage plus facilement appréciable.

*
* *

Nous avons pensé pouvoir aisément contrôler le dosage de l'essence sulfurée, produite par une macération de graines de Moutarde noire, par le titrage corrélatif du glucose produit simultanément au cours de la réaction.

Les résultats trouvés ne nous ont pas donné satisfaction

Au cours de ces essais, nous avons trouvé qu'il n'existe pas de glucose libre dans la Moutarde noire ; nous l'avons vérifié en stabilisant la drogue par immersion dans l'eau bouillante ; sur le liquide déféqué, nous avons appliqué la méthode de dosage des sucres, dite méthode de BERTRAND ; nous avons constaté l'absence de sucre réducteur.

MOUSSERON a signalé la présence de saccharose et de ferment hydrolysant de ce dernier, l'invertine, dans la poudre de semences de Moutarde noire. Nous avons, nous aussi, constaté la présence de saccharose dans la drogue, puisque nous avons été amené à isoler ce sucre, à l'état pur, au cours de nos essais sur l'extraction du myronate

de potasse. C'est ce saccharose qui a rendu difficile la mise au point d'une méthode d'estimation de la farine de moutarde, à partir du dosage simultané du glucose et de l'essence. M. HÉRISSEY nous a suggéré l'idée de dédoubler d'abord le saccharose de la drogue par l'invertine puis de procéder seulement ensuite au dosage de l'essence et du glucose, après dédoublement du sinigroside par la myrosine, mais nous avons été empêché par le temps de poursuivre notre travail dans cette direction.

Nous n'avons donc pas pratiqué d'autres dosages que ceux de l'essence sulfurée, dans ce milieu très complexe qu'est la farine de moutarde. Nous avons d'ailleurs voulu nous rendre compte de la façon dont se passe le dédoublement du sinigroside dans un milieu simple et c'est ce qui nous a amené à extraire le glucoside pour en étudier le dédoublement en milieu aqueux.

f) Extraction du ferment (myrosine) et du glucoside

(myronate de potasse, sinigrine ou sinigroside).

Pour étudier la réaction de l'allylsénévol et essayer de doser le glucose produit corrélativement par l'action hydrolytique de la myrosine sur le myronate de potasse, nous avons dû préparer ces deux corps :

a) Ferment : myrosine.

Pour extraire la myrosine des semences de moutarde blanche, nous avons utilisé un processus d'extraction calqué sur celui de la préparation de l'émulsine, établi par H. HÉRISSEY (1).

Des semences de moutarde blanche sont grossièrement pulvérisées au moulin. On les traite par 3 fois leur poids

(1) H. HÉRISSEY. — Recherche sur l'Emulsine ; *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 80, 1899.

d'eau, à froid, et on ajoute un centimètre cube de chloroforme au mélange. On agite ; on laisse reposer pendant 48 heures. On filtre à la presse. On traite le liquide filtré par addition d'acide acétique, dans la proportion de 0 cm³,75 d'acide acétique p. 100 cm³ de liquide. On laisse reposer pendant 24 heures. On filtre sur un filtre Chardin mouillé et on précipite le liquide filtré par quatre fois son volume d'alcool à 90°. On laisse reposer pendant 24 heures. On décante par siphonage le liquide surnageant le précipité ; on filtre ensuite sur un petit filtre de Büchner ; on essore à l'aide du vide ; on lave avec 100 cm³ d'alcool à 90° ; on essore de nouveau ; on lave avec 100 cm³ d'éther, on essore. On fait ensuite sécher dans le vide sulfurique.

Le rendement est d'environ 6 p. 100.

Nous avons aussi préparé une *poudre fermentaire*, selon le mode utilisé par HÉRISSEY et CHEYMOL (1) dans leurs recherches sur le *Geum urbanum*.

On fait macérer de la poudre de semences de moutarde blanche, pendant trois heures, dans 4 fois son poids d'alcool à 85° ; on filtre, on essore le produit à l'aide du vide ; on lave trois fois la poudre restée sur le filtre avec 100 centimètres cubes d'alcool à 85° ; on essore. On fait sécher à une température de + 30 degrés.

**b) Glucoside : myronate de potasse ou sinigrine
ou sinigroside.**

En vue de préparer le sinigroside, nous avons d'abord voulu utiliser la méthode préconisée par GADAMER.

La cristallisation du produit, au sein des eaux-mères alcooliques, a été très lente ; ce n'est qu'au bout de plusieurs mois que nous avons pu extraire et étudier un corps cristallisé.

(1) HÉRISSEY et CHEYMOL. — Extractions et propriétés de la géine ; glucoside générateur d'eugénol, contenu dans le *Geum urbanum*. *B. ul. de la Soc. d. Chimie Biot.*, [VII], 4, 1925.

Ce corps, dont le pouvoir rotatoire était dextrogyre, était un produit impur, qui, d'après l'analyse que nous en fîmes, était composé d'un mélange de saccharose et de myronate de potasse, dans la proportion de trois parties de saccharose pour une de glucoside environ. En outre, nous n'avons pu en recueillir qu'une faible quantité.

Ne pouvant obtenir en quantité notable et à l'état pur le sinigroside par la méthode de GADAMER, nous avons d'abord essayé de modifier le procédé d'extraction utilisé par ce dernier, en évitant l'emploi de l'eau et en utilisant seulement l'alcool pour entraîner le glucoside.

Nous donnons ci-après l'exposé de ces essais, en même temps que celui d'essais pratiqués suivant la méthode de GADAMER elle-même.

Exposé des essais d'extraction du glucoside avec l'alcool.

1^{er} ESSAI. — On traite 500 grammes de poudre de semences de Moutarde noire par cinq fois leur poids d'alcool à 93°. On opère dans un ballon en verre résistant de cinq litres de capacité, solidaire d'un réfrigérant ascendant ; on fait bouillir pendant 20 minutes en agitant de temps en temps. On laisse refroidir et reposer pendant 24 heures.

On décante ; on met de côté la liqueur alcoolique obtenue.

On fait, sur le tourteau, un deuxième traitement par la même quantité d'alcool à 93° et en opérant dans les mêmes conditions.

Après expression, on réunit les deux liqueurs et on laisse les liquides reposer pendant 24 heures. Il se fait un précipité ; on filtre le liquide extractif et on le soumet à la distillation en présence de 10 grammes de carbonate de calcium. L'extract mou obtenu est repris par 1000 grammes d'eau distillée, à chaud, pendant une heure. On laisse

refroidir, on ajoute quelques centimètres cubes de toluène et on laisse la solution aqueuse au repos pendant 24 heures. Ensuite on filtre ; on distille le liquide filtré sous pression réduite jusqu'à consistance d'extrait mou.

L'extrait mou obtenu est alors traité par 500 cm³ d'alcool à 93°. On fait bouillir pendant quelques minutes et on laisse refroidir. On distille à sec à l'aide de la trompe à eau. Il reste dans le ballon un gros extrait noirâtre que l'on additionne de 250 cm³ d'alcool à 95° et on fait bouillir pendant quelques minutes. On laisse refroidir et reposer pendant 24 heures la solution extractive ; on filtre ; on amorce la cristallisation par frottement sur les parois du vase.

La poudre de semences de Moutarde noire employée pour cette extraction titrait 0.93 d'essence sulfurée p. 100, ce qui correspondrait à une richesse de 3 gr. 89 de glucoside pour 100 grammes.

Le tourteau titre, après l'extraction, et après avoir été desséché à l'étuve à la température de + 37 degrés : 0 gr.,74 d'allylsénèvol pour 100 grammes, soit 3 gr.,40 de myronate de potasse.

La quantité de glucoside restant dans le tourteau étant considérable, on traite le tourteau de la manière suivante :

Le tourteau est repris, à l'ébullition, pendant 20 minutes, par 2500 centimètres cubes d'alcool à 50 degrés. Nous avons choisi ce titre alcoolique pour tenter de dissoudre davantage de sinigroside. Après refroidissement et repos de 12 heures, on passe et on exprime. La filtration consécutive est assez lente ; on ajoute un peu de toluène pour arrêter les fermentations qui pourraient éventuellement se produire.

Le liquide filtré est soumis à la distillation, après avoir été additionné de 5 grammes de carbonate de chaux. La première partie (l'alcool) étant distillée, la liqueur, qui a perdu

sa richesse alcoolique, se trouble par refroidissement. On la filtre sur un filtre Chardin mouillé. La filtration est assez longue. Le liquide clair obtenu est distillé ensuite, à l'aide du vide, à consistance d'extrait mou, après avoir été additionné de deux grammes de carbonate de chaux. La distillation est rendue difficile parcequ'il se produit au sein du ballon une mousse extrêmement persistante et abondante qui ne disparaît qu'après addition de deux grammes d'axonge.

L'extrait obtenu est repris par 500 centimètres cubes d'alcool à 93°, à l'ébullition, pendant 20 minutes. On laisse refroidir ; on filtre après avoir laissé en repos pendant 24 heures ; on distille à sec à l'aide du vide.

L'extrait sec, obtenu alors, est additionné de 100 centimètres cubes d'alcool à 95° ; on fait bouillir pendant quelques minutes ; on laisse refroidir ; et, 24 heures après, on filtre et on amorce le liquide filtré, par frottement sur les parois du vase, en vue de cristallisation. On fait encore un deuxième traitement semblable avec 100 autres centimètres cubes d'alcool à 95° pour être sûr d'avoir ôté le maximum du glucoside restant dans l'extrait. A la suite de cette extraction par l'alcool faible, faite sur le tourteau résiduel de la première partie de notre essai, nous avons opéré le titrage de l'essence sulfurée sur la poudre de moutarde ayant subi ces deux extractions. La teneur en allylsénévol est devenue beaucoup plus faible : 0,22 p. 100.

Les eaux-mères alcooliques des deux opérations (alcool à 93° et alcool à 50°) doivent contenir, en tout, 14 gr., 85 de glucoside. La cristallisation est amorcée, mais les cristaux se forment lentement.

2° ESSAI. — Nous avons fait une nouvelle tentative d'extraction analogue à celle que nous venons de décrire sur 500 grammes de poudre de semences de moutarde.

Au cours de ces deux essais, nous remarquons que lorsqu'on doit faire entrer de l'eau dans une opération, les extractions sont longues à cause de la difficulté de faire distiller l'eau même à l'aide du vide. Nous remplacerons donc dans notre troisième essai la deuxième partie de l'extraction qui était faite par de l'alcool faible, par une extraction à l'alcool fort.

3^e ESSAI. — La première partie de l'extraction est conduite comme nous l'avons décrite précédemment. On opère de la manière suivante au cours de la seconde partie :

Le tourteau est additionné d'alcool à 90° à raison de cinq fois le poids de farine de moutarde, primitivement mise en réaction ; on fait bouillir pendant 20 minutes ; on laisse reposer pendant 12 heures. On passe, on exprime ; la liqueur filtrée, additionnée de 10 grammes de carbonate de calcium, est distillée à consistance d'extrait mou, en s'aidant du vide.

Cet extrait mou est additionné de 500 grammes d'eau distillée. On fait bouillir pendant une heure ce mélange. On le laisse refroidir et reposer pendant 12 heures, on filtre ; on distille, à l'aide du vide, à consistance d'extrait ferme. On reprend ensuite par 500 cm³ d'alcool à 92°, pendant 10 minutes à l'ébullition. On laisse refroidir pendant 24 heures et on distille ensuite à siccité.

L'extrait sec traité à chaud par de l'alcool éthylique à 95° donnera une solution qui, filtrée, sera amorcée en vue de cristallisation du myronate de potasse.

Dans ce troisième essai, la proportion de sinigroside enlevé à la farine de moutarde est moins élevée que dans les deux premiers essais. Le dosage de l'essence prouve, en effet, que seulement 5 gr.,85 de sinigroside ont été dissous et que c'est la première partie de l'extraction qui donne le maximum de rendement.

5^e ESSAI. — Mettant à profit cette constatation, nous ne faisons dans le quatrième essai, que les deux traitements à l'alcool fort constituant la première partie de l'essai. Nous traitons donc la poudre de semences de moutarde par 10 fois son poids d'alcool à 90°, en deux reprises différentes.

5^e ESSAI. — Dans le 5^e essai, nous faisons d'abord 2 traitements à l'alcool à 90°, comme nous l'avons fait dans le quatrième essai, puis nous reprenons le tourteau par cinq fois son poids d'alcool à 83°.

La farine, soumise aux traitements alcooliques, titrait 1,239 d'allylsénèvol p. 100, ce qui correspond à une teneur de 5,19 en glucoside p. 100. Après le premier traitement, le titre en allylsénèvol devient 0,91 p. 100 et après le second traitement 0,86. La proportion de glucoside tombe finalement dans le tourteau à 3,60 p. 100.

Le traitement du tourteau par l'alcool à 83° diminue encore ces quantités. La proportion d'essence n'est plus que de 0,57 p. 100 et celle de glucoside de 2,38 p. 100.

La totalité des liqueurs extractives est traitée comme l'ont été celles des essais précédents,

6^e ESSAI. — Au cours du sixième essai, nous utilisons des solutions alcooliques de titres différents : à 90°, à 80°, et à 70°. Nous traitons la poudre de moutarde, à 3 reprises, par cinq fois son poids d'alcool à titre différent.

L'extraction faite par l'alcool à 70° ôte davantage de glucoside que les deux autres, mais le pourcentage total de myronate de potasse dissous n'est pas supérieur aux autres essais ; il reste toujours voisin de 15 grammes pour 500 grammes de farine de moutarde traitée.

7^e et 8^e ESSAIS. — Les septième et huitième essais sont analogues au sixième et la proportion de glucoside dissous et entraîné au cours des manipulations reste constante.

Etude des produits résultant des diverses cristallisations.

Les divers produits obtenus ont un pouvoir rotatoire dextrogyre ; ils contiennent tous beaucoup de saccharose. On a essayé d'éliminer celui-ci par fermentation alcoolique. Dans ce but, on dissout les produits cristallisés dans de l'eau et on additionne de levure des boulangers. On laisse la fermentation s'effectuer, ce qui demande un ou deux jours, puis on filtre ; on porte le liquide filtré à l'ébullition, en présence de 5 grammes de carbonate de chaux. On filtre de nouveau et on distille le liquide à sec. On reprend ensuite par de l'alcool à 95° à l'ébullition, on laisse reposer, on filtre et on amorce.

Dans tous les essais qui ont été faits dans cette direction on n'a obtenu que des résultats médiocres : la cristallisation du sinigroside, entravée par des impuretés, se faisait avec une extrême lenteur et les quantités de glucoside pur recueillies étaient toujours très faibles.

Etude critique de la méthode préconisée par Gadamer.

La méthode, indiquée par GADAMER, ne nous a pas permis d'obtenir la sinigrine à l'état pur ; ce corps était toujours mêlé à une certaine quantité d'une autre substance active sur la lumière polarisée, la déviant à droite et que nous avons identifiée comme étant du saccharose.

Il est possible d'ailleurs que la facilité d'extraction du sinigroside varie avec les espèces commerciales de poudre de moutarde noire et que GADAMER et d'autres auteurs aient pu, obtenir le glucoside par la méthode préconisée par ce dernier. Mais pour notre part, en opérant sur des lots commerciaux différents de moutarde, la méthode de GADAMER ne nous a, en aucun cas, donné satisfaction,

Nous donnons, ci-dessous, les résultats d'un des essais que nous avons pratiqués.

1.000 grammes de poudre de semences de moutarde noire sont traités par 850 grammes d'alcool à 87°, soit 900 centimètres cubes, dans un ballon de verre relié à un réfrigérant ascendant. On fait bouillir pendant 20 minutes. On laisse refroidir, on passe, on exprime ; on recueille 500 centimètres cubes de liquide. Le marc est repris par 750 grammes d'alcool à 87°, comme précédemment ; on passe, on exprime, on recueille 800 centimètres cubes de liquide.

Le tourteau humide dont le poids est alors de 1.200 grammes, est mis à macérer pendant 12 heures avec trois fois son poids d'eau distillée froide ; ce temps étant écoulé, on passe et on exprime.

Le tourteau pèse alors 1.700 grammes ; on le soumet à une seconde macération de deux heures, avec deux fois son poids d'eau distillée froide. On passe et on exprime.

On mélange les deux liquides extractifs aqueux, on les additionne de 5 cm³ de toluène et après repos de 12 heures on filtre sur un filtre Chardin mouillé.

On concentre la liqueur obtenue, au bain-marie, jusqu'à un volume d'environ deux litres ; on filtre sur un filtre Chardin. Le liquide filtré, additionné de deux grammes de carbonate de calcium, est distillé et, à l'aide du vide, concentré à consistance d'extrait mou.

L'extrait obtenu est alors traité par 500 cm³ d'alcool à 87°, à chaud, pendant 20 minutes. On laisse refroidir et déposer pendant 24 heures. On filtre ensuite et on met de côté la liqueur obtenue.

Sur l'extrait résiduel, on fait une deuxième opération, identique à la précédente.

On réunit les deux liqueurs extractives. Il se fait un précipité qu'on laisse déposer pendant 24 heures. On filtre et on distille à l'aide du vide à consistance d'extrait sec.

On ajoute à l'extrait sec obtenu 250 centimètres cubes d'alcool à 94°, on porte à l'ébullition pendant 20 minutes, on laisse refroidir et reposer pendant 24 heures. On filtre ensuite et on amorce.

Un volumineux extrait se rassemble dans le fond du ballon pendant le repos de 24 heures précédant la filtration. On en prélève une petite quantité et on additionne d'eau distillée et de poudre de semences de moutarde blanche ; on perçoit une odeur sulfurée très intense, après quelques minutes de macération, ce qui prouve qu'il existe encore beaucoup de glucoside dans l'extrait.

On traite alors cet extrait par de l'alcool à 94° à chaud, pour dissoudre le sinigroside et l'entraîner, à onze reprises différentes :

La première extraction a été faite avec 250 cm³ d'alcool à 94°

2 ^e	—	est faite avec 100	—	—
3 ^e	—	—	50	—
4 ^e	—	—	50	—
5 ^e	—	—	50	—
6 ^e	—	—	50	—
7 ^e	—	—	50	—
8 ^e	—	—	100	—
9 ^e	—	—	50	—
10 ^e	—	—	50	—
11 ^e	—	—	50	—

Nous ne faisons pas une douzième extraction parce que le résidu extractif ne laisse plus dégager qu'une quantité insignifiante d'essence.

Nous amorçons la cristallisation dans chaque liquide extractif par frottement avec du sinigroside.

Etude des produits des diverses cristallisations.

Après avoir attendu pendant environ deux mois que des cristaux se soient formés au sein des liquides extractifs, on recueille ces cristaux par essorage, on les lave chaque

fois avec 10 cm³ d'alcool à 90° employés en deux fois et on les sèche à l'air libre.

Poids des cristaux recueillis :

	grammes
Extraction 1.....	4,10
— 2.....	1,25
— 3.....	0,54
— 4.....	0,45
— 5.....	0,34
— 6.....	0,26
— 7.....	0,29
— 8.....	0,38 (1)
— 9.....	0,20
— 10.....	0,13
— 11.....	0,10

(1) Cette extraction a été faite avec 100 cm³ d'alcool à 94°.

Nous n'avons donc pu isoler que 8 gr.,04 de produit présumé être du sinigroside. Or, on voit plus loin dans l'étude du pouvoir rotatoire des produits des différentes cristallisations que c'est seulement à partir du produit de l'extraction n° 6 que le pouvoir rotatoire devient lévogyre.

Pouvoir rotatoire. — Le pouvoir rotatoire du sinigroside cristallisé est :

$$[\alpha]_D = - 15^{\circ},13'$$

d'après GADAMER.

Nous aurons l'occasion de constater qu'il est en réalité plus élevé quand nous étudierons le myronate de potasse.

Voici, pour notre part, les pouvoirs rotatoires des produits que nous avons obtenus.

Produit 1 :

$$[\alpha]_D = \frac{1,833 \times 100}{2 \times 2,032} = + 45^{\circ},11.$$

$$(v = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 2 \text{ gr.},032, \alpha = + 1^{\circ},50' = + 1^{\circ},833).$$

Produit 2 :

$$[\alpha]_D = \frac{1,366 \times 100}{2 \times 2,232} = + 30^{\circ},61$$

ou $[\alpha]_D = \frac{1,400 \times 100}{2 \times 2,232} = + 31^{\circ},36.$

$$(\nu = 100\text{-cm}^3, l = 2, p = 2 \text{ gr.}, 232, \alpha = + 1^{\circ},22' \text{ ou } 1^{\circ},24' \\ = + 1^{\circ},366 \text{ ou } + 1^{\circ},400).$$

Produit 3 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,90 \times 100}{2 \times 1,796} = + 25^{\circ},05.$$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 796, \alpha = + 0^{\circ},54' = + 0^{\circ},90).$$

Produit 4 :

$$[\alpha]_D = \frac{1 \times 100}{2 \times 1,7824} = + 28^{\circ},05.$$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 7824, \alpha = + 1^{\circ}).$$

Produit 5 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,166 \times 100}{2 \times 1,1264} = + 7^{\circ},39.$$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 1264, \alpha = + 0^{\circ},10' = + 0^{\circ},166).$$

Produit 6 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,133 \times 100}{2 \times 1,01} = - 6^{\circ},60$$

ou $[\alpha]_D = \frac{0,166 \times 100}{2 \times 1,01} = - 8^{\circ},25$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 01, \alpha = - 0^{\circ},8' \text{ ou } - 0^{\circ},10' \\ = - 0^{\circ},133 \text{ ou } 0^{\circ},166).$$

Produit 7 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,333 \times 100}{2 \times 1,1328} = - 14^{\circ},71$$

ou $[\alpha]_D = \frac{0,366 \times 100}{2 \times 1,1328} = - 16^{\circ},18.$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 1328, \alpha = - 0^{\circ},20' \text{ ou } - 0^{\circ},22' \\ = - 0^{\circ},333 \text{ ou } - 0^{\circ},366)$$

Produit 8 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,266 \times 100}{2 \times 1,1116} = - 11^{\circ},99$$

ou $[\alpha]_D = \frac{0,30 \times 100}{2 \times 1,1116} = - 13^{\circ},49.$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 1 \text{ gr.}, 1116, \alpha = - 0^{\circ},16' \text{ ou } - 0^{\circ},18' \\ = 0^{\circ},266 \text{ ou } 0^{\circ},30).$$

Produit 9 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,20 \times 100}{2 \times 0,828} = - 12^{\circ},07$$

ou $[\alpha]_D = \frac{0,233 \times 100}{2 \times 0,828} = - 14^{\circ},09.$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0 \text{ gr.}, 828, \alpha = - 0^{\circ},12' \text{ ou } 0^{\circ},14' \\ = - 0^{\circ},20 \text{ ou } - 0^{\circ},233).$$

Produit 10 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,166 \times 100}{2 \times 0,55} = - 15^{\circ},15.$$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0 \text{ gr.}, 55, \alpha = - 0^{\circ},10' = - 0^{\circ},166).$$

Produit 11 :

$$[\alpha]_D = \frac{0,133 \times 100}{2 \times 0,432} = - 15^{\circ},43.$$

$$(\nu = 100 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0 \text{ gr.}, 432, \alpha = - 0^{\circ},8' = - 0^{\circ},133).$$

L'examen des pouvoirs rotatoires, fournis par les divers produits examinés, prouve que le sinigroside est mélangé d'une substance active sur la lumière polarisée, dextrogyre. Il n'est pas sans intérêt de signaler que ce n'est qu'au bout de plusieurs extractions par l'alcool qu'on arrive à pouvoir faire cristalliser un corps ayant à peu près le même pouvoir rotatoire que celui attribué par GADAMER au glucoside.

Détermination de la richesse en sinigroside de chaque produit par titrage de l'essence que fournit son hydrolyse fermentaire.

Chaque produit est traité de la manière suivante :

On en dissout un certain poids dans un certain volume d'eau distillée froide. On prélève, de la solution obtenue, à l'aide d'une pipette jaugée, un volume tel que l'on ait toujours à peu près 9 ou 10 centigrammes de produit en réaction.

D'essais préliminaires, faits sur une petite quantité de myronate de potasse, nous avons pu conclure que des quantités de glucoside de cet ordre, mises en réaction, conduisaient à de bons résultats analytiques. C'est ainsi que sur du produit *pur*, employé à la dose de 0 gr.,04104, en macération aqueuse d'une heure additionnée de ferment sous forme de 1 gr. de poudre de semences de moutarde blanche, nous avons obtenu, par titrage de l'essence, 95 p. 100 du produit mis en réaction.

Nous faisons donc des macérations aqueuses d'une durée d'une heure en ajoutant au corps à doser 1 gr. de poudre de moutarde blanche. Le volume d'eau employée est de 100 cm³. Nous effectuons le titrage par la méthode volumétrique prescrite par le Codex, mais en utilisant une solution de sulfoeyanate d'ammoniaque décinormale.

Produit 1 :

$$[\alpha]_D = + 45^{\circ},11.$$

1°) 0 gr.,04064 fournissent 0 gr.,00245 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,01028 de glucoside.

2°) 0 gr.,08128 fournissent 0 gr.,00638 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0267 de glucoside.

Produit 2 :

$$[\alpha]_D = + 31^{\circ},22.$$

0 gr.,08928 fournissent 0 gr.,0089098 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0373 de glucoside.

Produit 3 :

$$[\alpha]_D = + 33^{\circ},40.$$

0 gr.,0898 fournissent 0 gr.,008414 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0352 de glucoside.

Produit 4 :

$$[\alpha]_D = + 28^{\circ},05.$$

0 gr.,08912 fournissent 0 gr.,0079198 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0331 de glucoside.

Produit 5 :

$$[\alpha]_D = + 7^{\circ},36.$$

0 gr.,1126 fournissent 0 gr.,01435 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0601 de glucoside.

Produit 6 :

$$[\alpha]_D = - 13^{\circ},16 \text{ ou } - 16^{\circ},43.$$

0 gr.,101 fournissent 0 gr.,01435 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0601 de glucoside.

Produit 7 :

$$[\alpha]_D = - 14^{\circ},69 \text{ ou } - 16^{\circ},15.$$

0 gr.,11328 fournissent 0 gr.,017819 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0746 de glucoside.

Produit 8 :

$$[\alpha]_D = - 11^{\circ},96 \text{ ou } - 13^{\circ},49.$$

0 gr.,1116 fournissent 0 gr.,016334 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0684 de glucoside.

Produit 9 :

$$[\alpha]_D = - 12^{\circ},22 \text{ ou } - 14^{\circ},24.$$

0 gr.,0828 fournissent 0 gr.,016334 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0684 de glucoside.

Produit 10 :

$$[\alpha]_D = 15^{\circ},09.$$

0 gr.,0825 fournissent 0 gr.,0144071 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0591 de glucoside.

Produit 11 :

$$[\alpha]_D = - 15^{\circ},30$$

0 gr.,0864 fournissent 0 gr.,015839 d'allylsénèvol,
soit 0 gr.,0663 de glucoside.

Il nous est possible, d'après les chiffres précédents, d'établir approximativement, par calcul, le pourcentage de glucoside pur contenu dans chaque produit cristallisé, ce qui permet de se rendre compte de la marche de l'extraction.

Pourcentage en glucoside pur.

Ce pourcentage, établi par le calcul, suppose que le dédoublement du glucoside contenu dans chaque produit examiné a été *total*, ce qui n'est pas tout à fait conforme à la réalité, la limite de ce dédoublement pouvant d'ailleurs quelque peu varier suivant plusieurs facteurs, en particulier la concentration de la liqueur en glucoside.

Produit	Dosage	Glucoside calculé	Pourcentage
—	Gr.	Gr.	—
1	0,04065	0,01028	25 p. 100
1	0,08128	0,0267	32 —
2	0,08928	0,0373	41 —
3	0,0898	0,0352	39 —
4	0,08912	0,03318	37 —
5	0,1126	0,0601	53 —
6	0,101	0,0601	59 —
7	0,11328	0,0746	65 —
8	0,11116	0,0684	61 —
9	0,0828	0,0684	82 —
10	0,0825	0,0591	71 —
11	0,0864	0,0663	76 —

Nous pouvons conclure des résultats fournis par cette longue série d'essais que la méthode prescrite par GADAMER ne fournit pas un moyen pratique d'extraction du glucoside pur pouvant s'appliquer indistinctement à toutes les variétés de semences de moutarde.

Nous avons donc renoncé à appliquer la méthode préconisée par GADAMER pour l'extraction du myronate de

potasse et nous avons cherché à établir un mode d'extraction sûr et pratique du sinigroside.

Après de multiples essais, nous avons atteint ce but et c'est la technique ainsi établie que nous allons maintenant décrire.

Procédé original d'extraction du glucoside (1).

Le procédé de préparation du sinigroside que nous proposons comporte les opérations suivantes : extraction à chaud par de l'acétone convenablement hydratée ; destruction, par fermentation alcoolique, du saccharose entraîné avec le glucoside ; cristallisation de ce dernier dans l'alcool fort.

Procédé.— Un kilogramme de poudrè de Moutarde noire, qu'il est inutile de déshuiler, est traité pendant vingt minutes environ, à l'ébullition, par 10 litres d'acétone hydratée, obtenus en mélangeant 2.500 cm³ d'eau et quantité suffisante d'acétone du commerce pour faire 10.000 cm³ (2) (3).

Après refroidissement, on exprime et on filtre ; on recueille sensiblement 9.250 cm³ de colature qu'on distille au bain-marie, en s'aidant à la fin de la trompe à eau, de façon à obtenir environ 2.000 cm³ de liqueur aqueuse résiduelle. Celle-ci est introduite dans une ampoule à décantation, pour la séparer d'une petite quantité d'huile surnageante, puis filtrée et soumise à la fermentation

(1) H. HÉRISSEY et R. BOVIN. — Sur la préparation du sinigroside (myronate de potasse, sinigrine) ; *Journ. Pharm. Chim.*, [8]. VI, 1927.

(2) Pratiquement, on peut se servir d'un mélange d'eau et d'acétone marquant 75° à + 15°-18°, à l'alcomètre centésimal de GAY-LUSSAC ; ce renseignement est utile à considérer, quand il s'agit d'utiliser de l'acétone récupérée d'opérations antérieures, par distillation.

(3) L'opération doit être attentivement surveillée, à cause des soubresauts de la masse pendant l'ébullition, des projections qui peuvent en résulter et de la grande facilité d'inflammation de l'acétone.

alcoolique par addition de 20 grammes de levure des boulangers fraîche ; après deux à trois jours, à la température du laboratoire, le saccharose est détruit. La liqueur est alors rendue neutre, par chauffage au bain-marie bouillant avec 15 à 20 grammes de carbonate de calcium ; elle est ensuite filtrée, puis concentrée sous pression réduite jusqu'à consistance sirupeuse. L'extrait liquide ainsi obtenu est repris à l'ébullition, à reflux, par 3.000 cm³ d'alcool à 83°-85° ; on laisse reposer pendant vingt-quatre heures et on filtre ; la liqueur alcoolique est distillée à fond, sous pression réduite. L'extrait résiduel est alors traité, à 6 ou 7 reprises successives, par l'alcool à 95°, à l'ébullition, à reflux, en utilisant chaque fois 200 à 300 cm³ de cet alcool ; le produit de chaque reprise n'est filtré qu'après un repos de vingt-quatre heures, au contact de l'extrait traité ; on constate qu'il se fait rapidement dans tous les liquides, sur amorçage, une cristallisation dont l'abondance va naturellement en décroissant de la première à la dernière reprise ; cette cristallisation peut se poursuivre pendant un temps assez long, deux semaines, par exemple.

Le produit ainsi obtenu est déjà à un état de pureté presque complet ; le rendement moyen, fourni par diverses poudres de moutarde officinales, a été de 11 à 12 grammes par kilogramme, mais, dans une fabrication suivie, ce rendement peut être augmenté, par récupération du glucoside resté en dissolution dans les eaux-mères alcooliques de cristallisation.

Purification. — Le sinigrósíde ainsi extrait peut être obtenu tout-à-fait pur par recristallisation dans l'alcool à 82°-83° (10 cm³ pour un gramme de glucoside).

Cette méthode de préparation du sinigrósíde est simple et d'exécution facile.

Caractères d'identité du corps obtenu..

Les caractères d'identité de la sinigrine sont fournis par son pouvoir rotatoire et son point de fusion au bloc de MAQUENNE.

Pouvoir rotatoire.— Le pouvoir rotatoire du sinigroside cristallisé avec une molécule d'eau est plus élevé que ne l'a indiqué GADAMER.

GADAMER avait indiqué $[\alpha]_D = -15^{\circ},13'$ à $15^{\circ},43'$.

En accord avec W. SCHNEIDER et ANSCHÜTZ (1) qui avaient obtenu pour un produit commercial purifié par leurs soins $[\alpha]_D = -17^{\circ},62$, nous avons observé sur du sinigroside cristallisé 6 fois, d'abord dans l'alcool à 95° , puis dans l'alcool à 82° - 83° , un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = -17^{\circ},42'$.

($\nu = 10 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ gr.}$, 5164 , $\alpha = -1^{\circ},48' = -1^{\circ},8$)

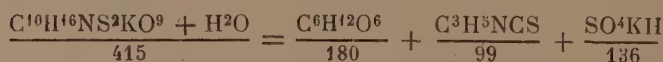
Point de fusion.— Le point de fusion pris au bloc de MAQUENNE est de 126° - 127° .

Le corps que nous avons obtenu est donc indiscutablement du sinigroside.

h) Etude de la décomposition fermentaire du myronate de potasse.

Le myronate de potasse (sinigroside) sous l'influence de son ferment spécifique, la myrosine, se dédouble en glucose, allylsénèvol et sulfate acide de potasse.

La réaction s'écrit :



(1) *B. d. de chem. Ges.*, XLVI, 2637, 1913.

Nous allons essayer de nous rendre compte, au cours de cette partie de notre thèse, des conditions de formation de l'essence sulfurée, en opérant sur le glucoside pur, en solution aqueuse.

Nous allons faire sur des quantités connues de sinigroside, préalablement soumises à l'action de la myrosine, d'abord des dosages d'essence, puis des dosages simultanés d'essence et de glucose, afin de nous rendre compte quantitativement de la valeur de l'hydrolyse. Nous basant sur les résultats que nous obtiendrons, nous pourrions déduire l'action des produits de dédoublement et en particulier l'action du bisulfate de potasse sur la marche de la réaction.

Dosages de l'allylsénèvol à partir du glucoside pur.

Nous faisons dissoudre une certaine quantité de sinigroside dans un volume déterminé d'eau distillée. Nous en prélevons un volume connu et nous ajoutons du ferment sous forme : soit de myrosine, soit de poudre fermentaire, soit de poudre de moutarde blanche, suivant les essais. C'est d'ailleurs la poudre de moutarde blanche qui nous a donné les meilleurs résultats ; son action est plus rapide que celle des autres produits fermentaires utilisés.

Nos essais portent sur des quantités de glucoside variables.

I. — 0 gr.,4948 de sinigroside, dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour avoir un volume de 50 cm³, fournissent trois prises d'essai de 15 cm³, correspondant chacune à 0 gr.,14844 de myronate de potasse.

Ces 15 cm³ de solution de glucoside sont additionnés de 1 gramme de poudre de moutarde blanche et de 85 cm³ d'eau distillée. Le titrage de l'essence effectué après une heure de macération indique que 0 gr.,0275 d'allylsénèvol ont été mis en liberté ; après deux heures de

macération, la proportion d'allylsénèvol dégagé augmente, puisque nous obtenons alors le chiffre de 0 gr.,02897 d'allylsénèvol ; après trois heures de macération, le chiffre indiquant la quantité d'essence libérée et passée à la distillation est 0 gr.,0275, comme après une heure de macération.

0 gr.,0275	d'allylsénèvol	correspondent à	0 gr.,11522	de glucoside
0 gr.,02897	—	—	0 gr.,12138	—
0 gr.,0275	—	—	0 gr.,11522	—

Ces résultats correspondent à un pourcentage de : 77,6 p. 100

—	—	81	—
—	—	77,6	—

II. — 0 gr.,3117 de sinigroside, dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour avoir un volume de 50 cm³, fournissent trois prises d'essai de 15 cm³, correspondant chacune à 0 gr.,09351 de myronate de potasse.

Ces 15 cm³, additionnés de 1 gramme de poudre de moutarde blanche et de 85 cm³ d'eau distillée, fournissent :

Après 4 heures de macération : 0 gr.,01964
d'allylsénèvol, soit 0 gr.,08229 de glucoside

Après 5 heures de macération : 0 gr.,01964
d'allylsénèvol, soit 0 gr.,08229 —

Après 6 heures de macération : 0 gr.,01941
d'allylsénèvol, soit 0 gr.,08132 —

Ces résultats correspondent à un pourcentage de : 88 p. 100

—	—	88	—
—	—	86	—

Nous obtenons donc un pourcentage beaucoup plus élevé que lors des précédents essais.

III. — Nous allons encore abaisser la richesse en glucoside de la solution à titrer. Nous dissolvons 0 gr.,1026 de myronate de potasse dans 25 cm³ d'eau distillée et nous opérons deux dosages sur dix centimètres cubes de cette liqueur, ce qui correspond à 0 gr.,0410 de sinigroside.

Ces 10 cm³, additionnés de 90 cm³ d'eau distillée et de 1 gramme de poudre de moutarde blanche fournissent :

Après une heure de macération : 0 gr.,00908
d'essence, soit..... 0 gr.,038 de glucoside
Après 4 heures de macération : 0 gr.,00933
d'essence, soit..... 0 gr.,039 —

Ces résultats correspondent à un pourcentage élevé puisque, dans le premier cas, le pourcentage est de 92,7 p. 100 et dans le second de 95 p. 100.

L'observation de MOUSSEON est donc justifiée : ce sont les solutions diluées qui fournissent le meilleur rendement et une hydrolyse presque totale puisqu'on peut retrouver, par un calcul simple, la quasi totalité du glucoside en réaction.

Toutefois, il est très intéressant de faire remarquer que les chiffres trouvés, dans le dernier cas, en apparence éloignés, sont extrêmement voisins car ils ne diffèrent entre eux que par l'addition d'une goutte de solution titrante.

Dans le cas de rendement de 92,7 p. 100, le volume de solution de sulfocyanate d'ammoniaque employée est de 18 cm³,15, et dans le cas du rendement de 95 p. 100, nous employons un volume de 18 cm³,1 de solution. Nous pouvons donc considérer que, lorsqu'on atteint ces pourcentages nous sommes très près du chiffre théorique.

Néanmoins nous avons essayé d'obtenir un rendement correspondant au rendement théorique, en utilisant les remarques que nos devanciers et nous mêmes avons faites sur l'influence de l'acidité développée au sein de la macération ; GADAMER avait déjà indiqué que l'addition d'alcali ou de carbonate de chaux pouvait accroître les résultats quant au pourcentage d'essence produite lorsqu'on traitait du myronate de potasse par de la myrosine.

Nous n'avons pas voulu ajouter une dose massive d'alcali

ou de carbonate de calcium au sein des macérations pour neutraliser l'acidité ; nous avons préféré tenter la transformation de cette acidité forte puisqu'elle vient du bisulfate de potasse, en acidité faible par *addition de sels jouant le rôle de tampon*. Nous avons choisi l'acétate et le citrate de sodium et avons essayé leur action en faisant parallèlement des essais témoins sans acétate ou citrate de sodium.

I. — 0 gr.,04784 de glucoside sont additionnés de 100 cm³ d'eau distillée et de 1 gr. de poudre de semences de moutarde blanche. On ajoute 0 gr.,50 d'acétate de sodium. On laisse macérer pendant une heure.

On fait un essai analogue avec la même quantité de glucoside, sans acétate de sodium.

L'essai contenant l'acétate de sodium nous donne un rendement de 95 p. 100 ; nous avons retrouvé 0 gr.,0455 du glucoside mis en œuvre.

L'essai témoin, fait dans les mêmes conditions donne un pourcentage de 75 p. 100 à 76 p. 100.

II. — 0 gr.,03838 de glucoside, traités en macération aqueuse d'une heure par 1 gr. de moutarde blanche, 0 gr.,50 d'acétate de soude, et 100 cm³ d'eau, fournissent un rendement de 98, puis de 100 p. 100.

On fait un essai analogue dans les mêmes conditions, mais sans acétate de soude. Le rendement obtenu est de 82 p. 100.

Si l'on considère les volumes de solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale employée, l'on voit que :

Lors du rendement de	98 p. 100,	le volume est de	18 cm ³ ,2
—	100 —	—	18 cm ³ ,15
—	82 —	—	18 cm ³ ,45

Ces résultats encourageants nous incitent à faire une série d'essais sur des quantités de glucoside de cinq centi-

grammes environ. Le rendement moyen, que nous obtenons, varie de 98 à 99,7 p. 100.

Nous avons voulu savoir si le citrate de sodium aurait la même action que l'acétate de sodium. Nous faisons en conséquence, des expériences sur 0 gr.,0316 de glucoside additionnés de ferment, comme ci-dessus, d'eau distillée, et de 0 gr.,50 de citrate de sodium.

Nous obtenons :

Après 1/2 heure	de macération,	100 p. 100
— 1 —	—	97 —
— 1 —	1/2 —	97 —

L'essai témoin, exécuté dans des conditions identiques à celles des 3 essais précédents, mais non additionné de citrate de sodium, ne donne qu'un rendement de 81 p. 100.

L'acidité forte, développée par le bisulfate de potasse au sein des macérations de myronate de potasse, a donc bien une action paralysante sur l'activité fermentaire de la myrosine, puisque les résultats sont accrus par addition de sels qui transforment l'acidité minérale du bisulfate de potasse en acidité produite par un acide organique

Dosages comparatifs d'essence et de glucose sur une même quantité de glucoside.

Pour savoir si l'hydrolyse du glucoside est totale, il nous semble qu'il n'y a plus qu'à connaître la quantité de glucose formé pendant la macération ; de cette connaissance et de celle de la quantité d'essence produite, on peut déduire celle du glucoside hydrolysé.

MOUSSEYON, qui a, lui aussi, cherché à doser le glucose formé, a signalé que l'on se heurtait à des difficultés pour réaliser le titrage du glucose. D'après cet auteur : l'examen polarimétrique ne peut être fait, à cause de la

formation de soufre au sein de la liqueur, ce qui empêche la visibilité ; et le dosage, à l'aide de la liqueur cupropotassique, par réduction, ne donnerait pas de bons résultats.

Nous avons voulu d'abord connaître quelle était la quantité de glucose existant dans la poudre de semences de moutarde blanche employée comme ferment. Une série de dosage nous indique que la proportion de glucose produit augmente à mesure que le temps de macération croît.

Nous opérons le dosage du sucre réducteur, par la méthode de BERTRAND, après avoir déféqué au sous-acétate de plomb, sur un volume de liquide correspondant à 1 gr. de poudre.

Un gramme de poudre de moutarde blanche fournit :

Après une macération aqueuse d'une heure :	0 gr.,01015	de glucose
— — — de 2 heures :	0 gr.,02067	—
— — — 3 — :	0 gr.,022	—
— — — 6 — :	0 gr.,03031	—

En présence de ces résultats, nous sommes mis dans l'obligation d'opérer les titrages dans des conditions rigoureusement identiques et en ayant toujours soin de faire un essai témoin sur une quantité de poudre de moutarde blanche égale à celle qui joue le rôle de ferment dans les macérations contenant le glucoside à hydrolyser. La différence, entre les résultats fournis par l'essai contenant du myronate de potasse et l'essai témoin, sera l'expression arithmétique de la quantité de sucre produite.

Sachant que le glucose constitue les 180/415 du poids du glucoside cristallisé, nous pourrons, par un calcul simple, savoir si l'hydrolyse est totale.

Avant d'exposer les résultats fournis par une expérience et les détails de manipulations que celle-ci comporte, nous devons dire que les dosages simultanés d'essence et de

glucose ne nous ont pas toujours donné des résultats aussi précis et que nous avons dû prendre de grandes précautions dans nos manipulations pour éviter les causes d'erreur ; celles-ci pouvant aller jusqu'à 18 p. 100.

Voici le détail des manipulations d'un essai qui nous a donné des résultats correspondant aux taux théoriques calculés à l'aide du dosage de l'essence et à l'aide du dosage corrélatif du glucose :

a) *Préparation du liquide fermentaire.* — 3 gr. de poudre de semences de moutarde blanche sont mis à macérer dans de l'eau distillée pendant 2 heures. Le volume total est de 60 cm³. On filtre après deux heures.

b) *Macération de glucoside* — On prépare une solution de myronate de potasse, correspondant à 0 gr.,05408 de glucoside par 10 cm³.

10 cm³ de cette solution sont additionnés de 0 gr.,50 d'acétate de sodium, de 70 cm³ d'eau distillée et de 20 cm³ de solution fermentaire. On fait macérer pendant 1 h. 1/4.

c) *Témoin.* — En même temps, on prélève 20 cm³ de la même solution fermentaire, on les additionne de 80 cm³ d'eau distillée, de 0 gr.,50 d'acétate de sodium et on les laisse en repos pendant le même laps de temps.

Le temps fixé étant écoulé, on ajoute, à la macération de glucoside et au témoin, 20 cm³ d'alcool à 90°. On place la macération de glucoside dans son bain de glycérine, on rattache le ballon au réfrigérant et on chauffe.

Tandis que le ballon contenant le glucoside chauffe, on porte le témoin au-dessus d'un réchaud à gaz et on le chauffe lentement de telle façon que l'ébullition se produise au même moment que l'ébullition de l'autre ballon.

Ayant ainsi fait bouillir en même temps les deux liquides, nous y avons arrêté toute fermentation.

Le ballon contenant le glucoside ayant laissé échapper son essence et une partie de son eau de macération, il ne reste, après la distillation, qu'environ 20 à 30 cm³ de liquide au fond du récipient ; on verse le tout, après refroidissement, dans une fiole jaugée ; on rince avec de l'eau distillée et on complète, après avoir ajouté 4 cm³ de sous-acétate de plomb liquide au volume final de 50 cm³. Ensuite on filtre et on dose le glucose sur une prise d'essai de 20 cm³.

L'essai témoin est traité de la manière suivante :

On le concentre au bain-marie bouillant jusqu'à obtention d'un volume d'environ 40 cm³ ; on l'additionne de 4 cm³ de sous-acétate de plomb liquide, on complète à 50 cm³ par addition d'eau distillée ; on filtre, et on titre le glucose sur une prise d'essai de 20 cm³.

Ayant ainsi opéré d'une manière identique et dans les mêmes conditions de temps, on obtient les résultats suivants :

Essence dégagée par distillation : 0 gr.,012869, ce qui correspond à 0 gr.,05392 de glucoside hydrolysé. Le rendement est de 99,7 p. 100.

Glucose. — La différence entre la quantité de glucose trouvée dans l'essai témoin et dans la macération de glucoside est exprimée par le chiffre de 0,02376.

Le calcul prouve que 0 gr.,05408 de sinigroside doivent produire 0 gr.,02345 de glucose.

Le rendement est donc de 101 p. 100.

Les chiffres théoriques et les chiffres trouvés par les dosages concordent aussi bien que le permettent les erreurs d'expérience.

Nous basant sur les résultats fournis par ces différents essais, nous allons maintenant donner nos conclusions :

Conclusions.

1°) L'hydrolyse fermentaire du glucoside est complète lorsqu'on ajoute aux macérations contenant une petite quantité de myronate de potasse un sel jouant le rôle de tampon. Avec des petites quantités de sinigroside, l'hydrolyse est totale.

2°) C'est à l'acidité sulfurique développée par le bisulfate de potasse formé au sein de la macération qu'il faut imputer la cause de l'arrêt ou du retard de l'hydrolyse du myronate de potasse.

Application.

Au fur et à mesure que la quantité de glucoside, mis en macération aqueuse, augmente, l'acidité augmente aussi corrélativement à la quantité de bisulfate de potasse mise en liberté qui devient plus grande. La quantité de cinq grammes de poudre de moutarde noire, indiquée par la Pharmacopée française pour le dosage de l'essence sulfurée, correspond à une quantité de glucoside d'environ 3 grammes p. 100, puisque le chiffre minimum exigé d'essence est de 0 gr., 70 p. 100. Il y a donc, au minimum, 15 centigrammes de myronate de potasse dans 5 grammes de poudre de moutarde.

Nous venons de voir qu'avec des quantités de glucoside variant de 5 à 7 centigrammes, nous obtenions l'hydrolyse complète de la sinigrine. Nous allons donc essayer d'opérer des titrages d'essence sur un gramme de poudre de semences de moutarde noire, afin de diminuer l'influence de l'acidité sulfurique sur le ferment, et en conservant le même volume d'eau distillée, soit 100 cm³, employé pour faire la macération.

Nous employons, pour le dosage de l'argent résiduel, une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale.

I. — Un gramme de poudre de moutarde noire, additionnée de 0 gr.,50 de citrate de sodium et de 100 cm³ d'eau distillée, fournit :

Après une macération d'une durée d'une heure.....	1,18	d'allylsénèvol	p. 100
Après une macération d'une durée d'une heure.....	1,18	—	—
Un essai témoin, fait sur 5 grammes, dans les mêmes conditions de macération, mais sans addition de citrate de sodium, fournit seulement.....	1,14	—	—

II. — Ces résultats satisfaisants nous incitent à essayer si, sur 5 grammes de poudre, additionnée de 2 grammes de citrate de sodium, le pourcentage en allylsénèvol dégagé serait accru. Le volume d'eau distillée est toujours 100 cm³.

Nous n'obtenons alors que.....	0,98	d'allylsénèvol	p. 100
et.....	1,03	—	—
L'essai témoin fait sur 5 grammes, dans les mêmes conditions, sans addition de citrate de sodium, fournit.....	1,14	—	—

III. — Nous remplaçons le citrate de sodium par l'acétate de sodium. Le pourcentage augmente légèrement. Nous obtenons : 1,07 d'allylsénèvol p. 100.

L'essai témoin fait dans les mêmes conditions, sans addition d'acétate de sodium, fournit toujours 1,14 d'allylsénèvol pour 100.

Puisqu'avec un gramme de poudre de moutarde noire, nous obtenons, en présence d'un sel tampon, des pourcentages plus élevés que ceux fournis par 5 grammes de cette même poudre, nous recommençons, sur des prises d'essais de 1 gramme, une série d'expériences, en nous servant d'acétate de sodium comme tampon.

1 gramme de poudre de moutarde noire, additionnée de 0 gr.,50 d'acétate de sodium, en macération aqueuse faite avec 100 cm³ d'eau distillée, fournit :

Après une heure de macération.....	1,23 d'allylsénévol p. 100		
— — —.....	1,23	—	—
— — —.....	1,23	—	—
— — —.....	1,23	—	—

Un essai témoin fait sur 5 grammes de poudre de moutarde noire, sans addition de sel tampon, fournit après une heure de macération.....

1,14 — —

Deux essais témoins faits sur un gramme de poudre de moutarde noire, sans addition de sel tampon, fournissent après une heure de macération.....

1,28 — —
— — —..... 1,28 — —

Il semble donc qu'il y aurait intérêt à diminuer la quantité de poudre de moutarde noire mise en réaction, dans le but d'augmenter le rendement en essence sulfurée. Toutefois, il est utile de signaler que les erreurs se multiplient dans ce cas par 5, car une différence de 1/10^e de centimètre cube de solution titrante représente cinq centigrammes ; une goutte de solution décimale de sulfocyanate d'ammoniaque correspond à une différence de 0 gr.,025 dans le pourcentage.

Nous avons exposé, lors de l'étude du procédé de dosage prescrit par le Codex, les quelques griefs que nous lui faisons, et, en particulier, la difficulté qu'il y a de voir exactement le virage si l'on n'a pas de terme de comparaison ; nous avons, en conséquence, voulu vérifier, à l'aide de la méthode préconisée par MORVILLEZ et MÆSE-MÆCKER, l'exactitude des résultats fournis par la méthode prescrite par la Pharmacopée française telle que nous la modifions. Nous avons comparé ces deux méthodes, en

opérant sur un gramme de farine de moutarde, comme nous le proposons.

● *Méthode de dosage par le procédé du Codex modifié.* —

Un gramme de poudre de semences de Moutarde noire est mis à macérer, pendant une heure, dans 100 cm³ d'eau distillée (le reste comme le prescrit le Codex).

On titre l'excès d'argent par une solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale.

Soit N le nombre de centimètres cubes de solution de sulfocyanate d'ammoniaque décimale employés, (20-N) multipliés par 0,29117, puis par 100, donnent la quantité d'allylsénévol fourni par 100 grammes de poudre de Moutarde noire.

Méthode iodométrique de Morvillez et Møsemæcker. —

MORVILLEZ et MØSEMÆCKER ont donné dans leurs publications la technique d'une méthode iodométrique que nous avons modifiée ainsi :

On fait macérer *un* gramme de poudre de semences de Moutarde noire pendant une heure... etc., etc. (la macération et la distillation se font comme l'indique le Codex). On reçoit le liquide distillé dans 100 cm³ d'ammoniaque et on distille jusqu'à obtention de 100 cm³ de liquide.

Ces 100 cm³ serviront à faire le dosage iodométrique.

Ils sont neutralisés, puis acidifiés par addition de 10 cm³ d'acide sulfurique, on ajoute 10 cm³ de solution décimale d'iode, on laisse dans l'obscurité pendant 15 minutes. On ajoute 10 cm³ de chloroforme, du décocté d'amidon et on titre l'excès d'iode par addition d'hyposulfite de soude décimale.

Si N représente le nombre de centimètres cubes de solution d'hyposulfite de soude décimale employés, la richesse en allylsénévol de 100 grammes de poudre de

Moutarde noire est donnée par le résultat du calcul suivant :

$$(10 - N) \times 0,00495 \times 100$$

Les résultats, que nous avons obtenus par ces deux méthodes, sont absolument identiques: Nous avons, en outre, effectué des titrages par ces deux méthodes sur une même solution de thiosinamine. Nous obtenons toujours des résultats identiques. Seule, la méthode de MORVILLEZ et MÆSEMÆCKER permet d'exécuter très vite le dosage. Son virage est extrêmement net.

Quelle que soit la méthode de dosage employée, le maximum d'essence est fourni par une macération aqueuse d'un gramme de poudre de Moutarde noire.

C'est ainsi que les 2 méthodes comparées nous donnent les pourcentages de 1,23 et 1,28 en allylsénèvol en dosant sur 1 gramme de poudre de Moutarde noire, et que ces pourcentages ne sont que de 1,12 et 1,14, en dosant sur 5 grammes.

Conclusions.

Nous basant sur ces résultats, sur les recherches que nous avons pratiquées sur le sinigroside, nous estimons qu'il serait utile d'opérer le titrage de l'essence sur 1 gramme de poudre et de porter le chiffre minimum d'allylsénèvol, exigé par la Pharmacopée française, de 0,70 à 0,90 p. 100, chiffre que l'on obtient très facilement avec les farines commerciales.

L'addition de sel tampon, lorsqu'on opère le titrage sur de la poudre de moutarde n'offre aucun avantage. GADAMER avait remarqué déjà que l'alcali ou le carbonate de chaux, ajouté aux macérations, ne produisait pas une augmentation de rendement lorsqu'on opérait sur de la poudre de semences de moutarde, tandis qu'en opérant des titrages sur le glucoside le rendement était accru.

Cela n'a rien qui puisse nous surprendre, car l'acidité minérale du bisulfate de potasse formé par l'hydrolyse peut se changer en acidité organique en réagissant sur les sels des acides organiques contenus dans la poudre de Moutarde noire, le milieu étant très complexe.

2. — Etude de l'Alliaire.

a) Historique. — Caractères généraux de la plante.

Richesse en principe actif.

Etude de la production de l'essence sulfurée.

En même temps que nous étudions la production de l'essence dans la poudre de semences de Moutarde noire, nous avons fait porter nos recherches sur une autre plante de la famille des Crucifères, l'Alliaire, dont le glucoside sulfuré n'avait pas encore été isolé.

Nous avons suivi pour l'étude de cette plante une marche parallèle à celle que nous avons utilisée pour la farine de Moutarde noire ; c'est ce qui explique pourquoi certains des essais que nous rapporterons paraîtront faire double emploi avec ceux relatés à l'occasion de la Moutarde noire ; mais on verra plutôt que les résultats, que nous avons trouvés avec l'Alliaire, renforcent les conclusions que nous avons tirées de nos essais à propos de la farine de moutarde, aussi ne nous a-t-il pas paru inopportun de les décrire ici.

L'Alliaire, *Sisymbrium Alliaria* Scop., *Alliaria* off. And., famille des Crucifères, croît spontanément dans nos contrées, dans les haies, les terrains broussailleux. Outre ses caractères botaniques qui permettent de la déceler facilement, cette plante dégage à l'état frais lorsqu'on

froisse une de ses parties végétatives, une odeur alliagée qui a été cause de sa dénomination.

Description (1).

S. Alliaria Scop., plante bisannuelle à odeur d'ail, tige de 40 à 80 centimètres, dressée, robuste, velue, hérissée à la base, feuilles à peu près glabres, larges, pétiolées, les inférieures en rein, crénelées ; les supérieures ovales en cœur, acuminées, grossièrement dentées ; fleurs blanches assez grandes — grappes fructifères longues à pédicelle court, étalées, dressées, siliques ascendantes subtétragones, raides, bosselées, velues à 3 nervures. Graines oblongues, cylindriques, fortement striées, brunâtres, sur un rang.

Nous avons pu, à la suite de nos recherches préliminaires, constater que la partie riche en essence sulfurée et d'ailleurs la plus facile à récolter, était la semence.

Nous avons recueilli les semences d'Alliaire, au mois de juillet, époque de la maturité de la graine.

L'existence, dans l'Alliaire, d'un ferment et d'un glucoside, donnant par réaction, en présence d'eau, un dégagement d'essence sulfurée, a été déjà mise en évidence par les recherches de certains pharmacologues ; mais, ce ferment et ce glucoside n'ont pas été isolés. Se basant sur les produits fournis par l'hydrolyse fermentaire, certains auteurs ont conclu à la présence de myrosine et de myronate de potasse ; mais, en fait, avant nos recherches, l'extraction de ce dernier principe n'a jamais été réalisée de telle sorte que la nature du glucoside sulfuré était en réalité tout à fait incertaine. Certains auteurs distillèrent des parties de plante, après les avoir

(1) COSTE (Abbé).— Flore descriptive illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes avec introduction sur la flore et la végétation de la France par Ch. FLAHAULT. *Ktinsieck*, 1901-1906.

fait macérer dans de l'eau, et identifièrent l'huile essentielle formée avec celle de la Moutarde noire en émettant un doute quant au mélange de sénévol allylique et d'essence d'ail ; un autre auteur démontra la présence d'un glucoside à sénévol par application d'une méthode biochimique de recherche dont nous donnerons la technique par la suite.

Avant d'entreprendre l'exposé de nos recherches personnelles, nous voulons passer en revue, rapidement, les travaux des différents auteurs qui ont traité à la question de la recherche du glucoside dans l'Alliaire et à la caractérisation de ce principe.

Le premier, en date, est WERTHEIM (1).

T. WERTHEIM ayant observé que la racine d'Alliaire développe une odeur et une saveur rappelant beaucoup celles que donne la racine de Raifort, entreprit l'étude de l'essence de racine d'Alliaire et identifia celle-ci, par formation de thiosinamine, avec l'essence de Raifort dont HUBATKA (2) avait d'ailleurs démontré antérieurement l'identité avec l'essence de moutarde (isosulfocyanate d'allyle). WERTHEIM rechercha en outre si l'odeur de la feuille froissée est bien due, en fait, à la présence d'essence d'ail (sulfure d'allyle). Mais, quoique ayant distillé une grande quantité de tiges et de feuilles d'Alliaire, il ne put extraire aucune quantité appréciable d'essence d'ail, bien que l'eau distillée ainsi obtenue possédât à un fort degré l'odeur et la saveur caractéristiques de l'ail.

PLESS (3) reprit les recherches de WERTHEIM.

(1) WERTHEIM. — Ueber das flüchtige Oel der *Alliaria officinalis*, *Ann. Chem.*, LII, 52, 1844.

Ueber den Zusammenhang zwischen Senföl und Knoblauchöl ; *ibidem*, LV, 297, 1845.

(2) HUBATKA. — Ueber die Zusammensetzung des Meerrettigs-Oels (*Oe. armoraciæ*), *Ann. Chem.*, XLVII, 153, 1843.

(3) PLESS. — Notiz über die flüchtigen Oel. mehrerer Cruciferen, *Ann. Chem.*, LVIII, 36, 1846.

D'après PLESS, les différentes parties de l'Alliaire fourniraient bien un mélange d'essences de moutarde et d'ail ; les semences, en particulier, lui auraient donné environ 0,60 p. 100 d'huile volatile contenant neuf dixièmes d'essence de moutarde. Il déclare d'ailleurs qu'il a rencontré parfois des échantillons d'Alliaire qui ne lui ont fourni aucune trace d'essence d'ail.

TER MEULEN (1) a appliqué à cette plante, sa méthode biochimique. Il confirme qu'il existe, dans les cellules de l'Alliaire, un ferment et un glucoside à sénévol. La méthode biochimique de TER MEULEN est basée sur le principe suivant : quand une partie d'une plante, tige, racine, feuille ou graine, broyée avec de l'eau, empêche la croissance du *saccharomyces mycoderma* dans de la bière avec laquelle on l'a mélangée, il y a lieu de croire que cette plante contient un sénévol.

Pour avoir la certitude qu'il existe un glucoside, on plonge la plante dans de l'eau bouillante, puis on en fait deux parts. Chaque part est mélangée dans un verre avec un peu de bière ; on ajoute de la myrosine dans l'un des deux verres et on infecte les deux verres en leur ajoutant du *mycoderme*.

Si, après quelques jours d'attente, le verre ne contenant pas de myrosine présente à sa surface une pellicule de *mycoderme* et que l'autre ne présente rien, la preuve est faite de l'existence d'un glucoside à sénévol dans la plante étudiée ; ce glucoside a été décomposé par la myrosine qui a mis en liberté un sénévol et ce dernier a empêché la croissance du *saccharomyces mycoderma*.

En résumé, l'existence d'un ferment et d'un glucoside était démontrée, mais la nature du glucoside restait à caractériser.

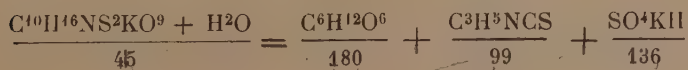
(1) Sur quelques glucosides contenant des sénévols, *Recueil des travaux chimiques, Pays-Bas et Belgique* [2], XIX, 37, 1900,

*
* *

Nous publierons, au cours de ce travail, les résultats des titrages de l'essence effectués sur les parties végétatives de l'Alliaire, racines, tiges, feuilles, siliques, à l'état frais. Le maximum de rendement en essence étant fourni par les siliques, nous avons titré successivement l'essence sulfurée dégagée par une macération de graines et l'essence sulfurée libérée par une macération de siliques dépourvues de leurs graines ; nous avons constaté que les semences d'Alliaire étaient seules susceptibles de fournir dans certaines conditions un rendement considérable d'essence sulfurée et c'est sur elles que nous avons pratiqué nos essais.

Ces semences ont été cueillies aux environs de Paris, dans les bois, au mois de juillet, au moment où les siliques s'entr'ouvrent. La drogue, soigneusement triée, a été, après séchage, passée au moulin pour la pulvériser. Nous avons obtenu une poudre brunâtre, donnant en macération aqueuse un soluté brun rouge.

Sur cette poudre, nous avons recherché et dosé l'essence sulfurée libérée par une macération aqueuse, selon les prescriptions indiquées par le Codex français pour la production et le dosage de l'allylsénèvol de la poudre de semences de Moutarde noire. WERTHEIM ayant indiqué que l'essence d'alliaire était identique à celle de raifort, et HUBATKA ayant indiqué que l'essence de raifort était identique à celle de moutarde, nous avons établi nos calculs comme s'il s'agissait bien d'essence de moutarde, en considérant que le glucoside était du myronate de potasse dédoublable par son ferment spécifique selon la réaction connue et dont on peut écrire la formule :



La caractérisation du glucoside, après son extraction par notre procédé original d'extraction de la sinigrine, confirmera la justesse de nos calculs, le glucoside sulfuré contenu dans la Moutarde noire et dans l'Alliaire étant un seul et même corps : le *myronate de potasse*.

Nous nous proposons ensuite de faire connaître :

a) la quantité de glucoside existant dans les semences d'Alliaire ;

b) le temps de macération nécessaire à la libération de l'essence ;

c) la quantité nécessaire de poudre de semences à employer pour avoir des résultats satisfaisants ;

d) l'action de la température sur la libération de l'essence, en macération aqueuse ;

e) les résultats fournis par la macération telle que la prescrit la Pharmacopée française pour la poudre de semences de Moutarde noire ;

f) l'action de la macération hydroalcoolique sur la libération de l'essence ;

g) l'action de la macération hydroalcoolique additionnée de ferment sur la production de l'essence ;

h) l'action de la macération aqueuse additionnée de ferment sur la production de l'essence ;

i) l'influence des neutralisants de l'acidité sur l'activité fermentaire des macérations aqueuses ;

j) l'influence des acides faibles sur cette activité ;

k) l'influence de l'addition de ferment sous forme de myrosine ;

l) l'influence de l'addition de poudre fermentaire de moutarde blanche ;

m) nous formulerons les conclusions que nous aurons tirées de nos recherches.

Ayant ainsi déterminé quelles sont les meilleures conditions de macération nécessaires au développement de l'essence sulfurée des semences d'Alliaire, nous étudierons le glucoside; après l'avoir isolé par application à la poudre d'Alliaire de la méthode d'extraction employée pour extraire le sinigroside ; puis nous formulerons nos conclusions.

Etude de la plante fraîche.

A la fin de mai, on recueille la plante *entière*. On la broie au hachoir universel. On mélange avec soin la pulpe obtenue et on effectue des titrages de l'essence sulfurée sur 50 grammes de ce hachis.

Cette pulpe est mise à macérer dans 150 centimètres cubes d'eau distillée, à la température du laboratoire, aux environs de + 15 à + 17 degrés.

Au moment de distiller, nous ajoutons 20 centimètres cubes d'alcool à 95°. On distille par chauffage au bain de glycérine et on reçoit le distillat dans une fiole jaugée contenant 10 centimètres cubes de solution ammoniacale. On pousse la distillation jusqu'à obtention d'un volume d'environ 120 à 130 centimètres cubes de liquide ; on ajoute alors 20 centimètres cubes de solution d'azotate d'argent décimale et on complète au volume final de 150 centimètres cubes.

On obtient ainsi :

	Pour 100 grammes	
	essence	glucoside calculé en myronate de K
	gr.	gr.
Après une macération :		
d'une durée d'une heure.....	0,02375	0,0995
— de deux heures.....	0,02276	0,0954
— de trois heures.....	0,02078	0,0871
— de quatre heures.....	0,02474	0,1036
— de cinq heures.....	0,02474	0,1036
— de six heures.....	0,02276	0,0954

Nous avons voulu vérifier s'il ne restait pas dans les résidus des macérations une certaine quantité de glucoside non hydrolysé par suite du manque de ferment ou d'une action fermentaire insuffisante. Nous avons, en conséquence, additionné tous les résidus de distillation de 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche et rétabli le volume primitif d'eau employé pour la macération, par addition d'une quantité équivalente de ce véhicule à celle qui était passée à la distillation.

Après une macération aqueuse d'une heure, nous n'avons obtenu que huit milligrammes d'essence sulfurée, ce qui correspond à trois centigrammes de glucoside pour 100 grammes de plantes. Les macérations aqueuses d'une durée de 2 et de 3 heures nous ont donné deux centigrammes. Ces chiffres correspondent à ceux que fournissent 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche mise à macérer seule. On est donc fondé à croire que la totalité du glucoside contenu dans l'Alliaire a été hydrolysé par son enzyme.

**Richesse en essence et en glucoside
des différentes parties de la plante fraîche.**

Après cueillette de la plante entière, nous séparons et nous traitons immédiatement : les racines, les tiges, les feuilles et les siliques.

Chaque partie est hachée au hachoir universel. On prélève cinquante grammes de la pulpe obtenue et on les fait macérer dans 100 centimètres cubes d'eau distillée pendant trois heures. Au moment d'entraîner l'essence par distillation nous ajoutons 20 centimètres cubes d'alcool à 90° pour faciliter cet entraînement. Nous opérons ensuite comme nous l'avons dit précédemment.

Pour 100 grammes de partie végétative, nous obtenons :

Dans les racines..	0 gr.,012 d'essence, soit	0 gr.,053 de glucoside	
Dans les tiges....	0 gr.,0049	—	0 gr.,02 —
Dans les feuilles..	0 gr.,0217	—	0 gr.,0909 —
Dans les siliques.	0 gr.,1138	—	0 gr.,4768 —

Nous sommes, dès lors, certain que nous pourrons extraire des siliques le glucoside puisqu'il y existe en quantité notablement supérieure aux autres parties de la plante.

Evaluation de la teneur en eau de chaque partie de la plante.

Nous avons évalué cette quantité d'eau, en desséchant chaque partie par suspension dans un courant d'air, à l'abri de la lumière, pendant une trentaine de jours.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Les racines contiennent environ....	74 p. 100 de leur poids d'eau.	
Les feuilles	—	78 —
Les tiges	—	74 à 75 —
Les siliques	—	60 —

Richesse en essence sulfurée des siliques sèches dépourvues de leurs graines.

Nous avons fait des essais sur les siliques sèches, dépourvues de leurs graines ; le titrage de l'essence sulfurée produite par une macération aqueuse, nous a prouvé que leur richesse en principe actif, était négligeable.

Les expériences que nous venons de mentionner, nous indiquent que l'organe végétatif le plus riche en essence sulfurée est la graine. Nous avons donc opéré dans la suite, nos essais sur les semences d'Alliaire pulvérisées, afin d'étudier l'influence des différentes conditions de macération susceptibles de fournir le maximum de rendement en essence,

**Etude des conditions
de dédoublement du glucoside sulfuré contenu
dans la poudre de semences d'Alliaire.**

a) *Quantité de glucoside existant dans les semences d'Alliaire.* — La quantité de glucoside existant dans les semences d'Alliaire est de l'ordre de celle qui existe dans la poudre de semences de Moutarde noire. Elle est d'environ 4 grammes pour 100 grammes de poudre.

La quantité de ferment est insuffisante pour dédoubler rapidement et complètement le glucoside, même au cours de macérations prolongées.

5 grammes de poudre de semences d'Alliaire mises à macérer dans 100 cm³ d'eau distillée fournissent :

Après une heure de macération :

0,47 d'essence p. 100, soit en myronate de potasse... 1,9693 p. 100

Après deux heures de macération :

0,52 d'essence p. 100, soit en myronate de potasse... 2,1788 —

Après six heures de macération :

0,82 d'essence p. 100, soit en myronate de potasse... 3,4358 —

Après six heures de macération :

0,83 d'essence p. 100, soit en myronate de potasse... 3,4777 —

Mais, si l'on ajoute du ferment sous les espèces de 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche, le pourcentage en essence et en glucoside augmente.

5 grammes de poudre de semences d'Alliaire, additionnés de 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche, fournissent dans les mêmes conditions de macération :

Après une heure :

1,02 d'essence p. 100, soit 4,2738 de glucoside p. 100

Après une heure :

1,02 d'essence p. 100, soit 4,2738 —

Après six heures :

1,01 d'essence p. 100, soit..... 4,2319 de glucoside p. 100

Après six heures :

1,03 d'essence p. 100, soit..... 4,3157 —

L'addition de poudre de semences de moutarde blanche amène une erreur par excès de 2 ou 3 centigrammes, mais, en admettant un rendement de 1 gramme d'essence p. 100, nous voyons que la richesse en glucoside de la poudre d'Alliaire est égale à celle de la poudre de Moutarde noire et que, d'autre part, sa richesse en ferment est infiniment moins grande.

b) Temps de macération nécessaire à la libération de l'essence. — Le temps de macération nécessaire pour obtenir un chiffre élevé d'essence sulfurée varie avec le liquide employé pour faire la macération. Lorsqu'on n'ajoute pas de ferment à la poudre en réaction, ce sont les macérations prolongées qui donnent le rendement le plus élevé ; bien que, comme cela se passe pour la Moutarde noire, une certaine quantité d'essence disparaisse peut-être au cours d'une macération prolongée.

En macération aqueuse. — Le temps optimum est de 6 heures. On obtient, en effet : 0,81 et 0,83 p. 100 d'essence en ce laps de temps (la macération était faite avec 5 grammes de poudre et 100 centimètres cubes d'eau distillée).

Si, à une macération aqueuse, on ajoute du ferment sous forme de 5 grammes de poudre de moutarde blanche, le temps optimum devient d'une heure et le rendement est plus élevé.

5 grammes de poudre de semences d'Alliaire + 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche fournissent :

Après une heure de macération :
dans 100 cm³ d'eau distillée..... 1,02 d'essence p. 100.

Après une heure de macération :
dans 100 cm³ d'eau distillée..... 1,03 —

En macération hydro-alcoolique.— Faite avec 20 cm³ d'alcool à 90° et 80 cm³ d'eau distillée par 5 grammes de poudre d'alliaire, le temps optimum est de 38 heures.

5 grammes de poudre d'Alliaire fournissent en macération hydro-alcoolique :

Après une macération :
d'une durée d'une heure et demie..... 0,16 d'essence p. 100
— de six heures 0,62 —
— de trente-huit heures..... 0,85 —
— de soixante-deux heures..... 0,67 —

Mais, si à une macération hydro-alcoolique de 5 grammes de poudre de semences d'Alliaire, nous ajoutons 5 grammes de poudre de semences de moutarde blanche, les rendements deviennent constants et nous obtenons le même pourcentage après une heure de macération qu'après une macération prolongée.

5 grammes de poudre d'Alliaire + 5 grammes de poudre de moutarde blanche fournissent en macération hydro-alcoolique :

Après une macération :
d'une durée d'une heure..... 0,97 d'essence p. 100
— de 2 heures..... 0,97 —
— de 3 heures..... 0,97 —
— de 4 heures..... 0,99 —
— de 5 heures..... 0,98 —
— de 6 heures..... 0,98 —
— de 24 heures..... 0,97 —

D'autre part, si, à un échantillon témoin fait en macération aqueuse additionnée de ferment, nous ajoutons, au bout d'une macération d'une durée d'une heure, 20 cm³

d'alcool à 90° et que nous laissions en contact pendant 24 heures, le chiffre d'essence obtenu, par distillation, reste sensiblement le même : nous obtenons un gramme p. 100.

Nous pouvons donc conclure de ces essais : que la durée optimum de macération doit être d'une heure, avec addition de ferment, en milieux aqueux ; que le ferment est en quantité insuffisante dans la poudre de semences d'Alliaire pour hydrolyser totalement le glucoside ; que l'alcool ralentit l'action fermentaire, mais permet ensuite de conserver la quantité d'essence produite par une macération faite en milieu aqueux.

c) Quantité de poudre de semences d'Alliaire à employer pour avoir des dosages satisfaisants. — Il nous a semblé que la quantité de 5 grammes de poudre était suffisante pour avoir des résultats satisfaisants. La distillation se fait bien, le liquide ne mousse pas et on peut être sûr en recueillant environ 70 centimètres cubes de distillat de ne pas avoir de perte par non entraînement de l'essence produite. Si l'on augmentait la quantité de poudre, il faudrait recueillir davantage de distillat et les conditions du dosage seraient les mêmes.

d) Action de la température. — La température, dans les limites ordinaires de température du laboratoire, ne semble pas avoir grande influence sur la production de l'essence.

A la température de la glace fondante, une macération de 5 grammes de poudre d'Alliaire additionnée de 5 gr. de poudre de moutarde blanche fournit 0,98 d'essence pour 100. A + 20 degrés, une macération identique donne le même rendement.

Mais à + 37 degrés, nous avons obtenu 1,05 p. 100, il

y aurait donc à cette température une légère surproduction d'essence.

e) *Résultats fournis par la macération telle que la prescrit le Codex pour la poudre de semences de moutarde noire.* — Ces résultats sont nettement au-dessous de ceux que l'on obtient par des macérations prolongées. En une heure, le ferment hydrolysant ne peut dédoubler complètement le glucoside, car il existe en quantité trop restreinte. Il faut, dans le cas de l'Alliaire, avoir recours aux macérations prolongées et les rendements sont encore inférieurs, comme nous l'avons vu plus haut, à ceux obtenus en ajoutant du ferment à la drogue examinée.

f) *Action de la macération hydro-alcoolique sur la libération de l'essence.* — Cette action se traduit comme nous l'avons démontré précédemment, par un ralentissement de l'action fermentaire, puisque le maximum de rendement n'est obtenu qu'après 38 heures.

g) *Action d'une macération hydroalcoolique additionnée de ferment sur la libération de l'essence.* — Avec ce procédé nous obtenons des rendements constants :

Après une heure, nous avons	0,97	p. 100
— 24 —	—	0,97 —

Toutefois le meilleur rendement est celui d'une macération d'une durée de 4 heures qui fournit 0,99 p. 100.

h) *Action de la macération aqueuse additionnée de ferment.* — C'est cette action qui est la plus intéressante. Nous avons vu, au cours de cet exposé, qu'elle donnait les meilleurs résultats ; mais, la quantité de cinq grammes de poudre de semences de moutarde blanche étant considérable, nous avons cherché quelle était la quantité minima à employer.

En additionnant de 1 gramme de poudre de moutarde blanche une macération aqueuse d'Alliaire, nous obtenons :

Après 1 heure.....	1,04	d'essence pour 100
— 2 —	1,04	—
— 3 —	1,04	—
— 4 —	1,03	—
— 5 —	1,02	—
— 6 —	1,02	—

Dans les mêmes conditions, les macérations hydroalcooliques nous livrent :

Après 1 heure.....	0,96	d'essence pour 100
— 2 —	0,98	—
— 3 —	1	—
— 4 —	1	—
— 5 —	0,97	—
— 6 —	0,96	—

Nous avons essayé de diminuer encore en macération aqueuse la proportion de ferment à ajouter.

Nous avons opéré des titrages sur une poudre d'Alliaire additionnée du dixième de son poids de poudre de moutarde blanche.

Les macérations aqueuses ont fourni :

Après 1 heure.....	1,02	d'essence pour 100
— 2 —	1,03	—
— 3 —	1,01	—
— 4 —	1,01	—
— 5 —	0,99	—
— 6 —	0,99	—

Ces résultats sont très satisfaisants, ils démontrent tous la richesse en glucoside de la drogue étudiée.

i) Influence d'un neutralisant de l'acidité sur l'activité fermentaire de l'enzyme contenu dans l'Alliaire. — On pourrait croire qu'il se développe au sein des macérations

de poudre d'Alliaire une acidité gênant l'activité du ferment et qu'ainsi le ferment pourrait quand même exister en quantité suffisante pour hydrolyser complètement le glucoside à sénévol.

Pour démontrer qu'il n'en est rien et que le ferment existe, mais en trop petite quantité, nous avons additionné des macérations aqueuses de 5 grammes de poudre d'Alliaire de 0 gr.,50 de carbonate de calcium.

Nous avons obtenu les rendements suivants :

Après une macération de 1 heure...	0,23 d'essence p. 100
— 2 — ...	0,31 —
— 4 — ...	0,46 —
— 5 — ...	0,52 —
— 27 — ...	0,61 —

j) Influence d'un acide faible sur l'activité fermentaire. —

Nous avons cherché à connaître l'influence de l'acidité sur l'activité du ferment. Nos essais renforcent les conclusions que nous avons tirées de nos expériences sur la Moutarde noire. L'acidité a un rôle néfaste à la production de l'essence.

Les rendements que nous avons obtenus, en additionnant une macération aqueuse de 5 grammes de poudre d'Alliaire de 0 gr.,50 d'acide tartrique, sont les suivants :

Après une macération d'une durée de :

1 heure.....	0,31 d'essence pour 100
2 —	0,44 —
4 —	0,60 —
5 —	0,67 —
27 —	0,67 —

k) Influence de l'addition de ferment sous forme de myrosine (1). — La myrosine dédouble le glucoside de

(1) Nous avons donné dans le chapitre concernant le ferment et le glucoside de la Moutarde noire les modes d'obtention de la myrosine.

l'Alliaire ; l'hydrolyse est un peu plus lente que celle produite par la poudre de moutarde blanche, mais les résultats sont identiques.

Une macération aqueuse de 5 gr. de poudre d'Alliaire additionnée d'un gramme de myrosine fournit :

Après 1 heure.....	0,70 d'essence pour 100	
— 2 —	0,99	—
— 3 —	1,03	—
— 4 —	1,02	—
— 5 —	1,02	—
— 6 —	0,98	—

l) *Influence de l'addition de poudre fermentaire de moutarde blanche.* — La poudre fermentaire de moutarde blanche hydrolyse le glucoside sulfuré, mais son action est plus lente encore que celle de la myrosine.

5 grammes de poudre d'Alliaire + 1 gramme de poudre fermentaire de moutarde blanche donnent les rendements suivants :

Après une macération aqueuse, faite avec 100 cm³, d'une durée de :

1 heure.....	0,39 pour 100	
2 —	0,60	—
3 —	0,83	—
4 —	0,97	—
5 —	0,99	—
6 —	1	—

m) *Conclusions.* — 1°) La quantité de glucoside à sénèvol contenu dans la poudre de semences d'Alliaire est de l'ordre de celle contenue dans la poudre de semences de moutarde noire.

2°) Le ferment existe en trop petite quantité pour hydrolyser, même après beaucoup de temps (38 heures), le glucoside contenu dans cette poudre.

3°) Le meilleur procédé de macération, pour libérer la totalité de l'essence au cours de l'hydrolyse, consiste en une macération aqueuse dont la durée doit être fixée à *une heure*, à condition toutefois d'ajouter de la poudre de semences de moutarde blanche dans la proportion de *un dixième* du poids de la poudre de semences d'Alliaire mise en réaction.

4°) Le dosage effectué sur cinq grammes de poudre d'Alliaire donne des résultats satisfaisants.

5°) La macération doit être faite à une douce température (environ + 30 à 35 degrés).

6°) La myrosine dédouble le glucoside, mais cette constatation ne peut suffir pour prouver que ce corps soit du myronate de potasse, cet enzyme pouvant hydrolyser différents glucosides sulfurés.

b) Extraction du glucoside ; identification.

Nous avons appliqué, à la poudre de semences d'Alliaire, la méthode d'extraction que nous avons élaborée pour extraire le myronate de potasse de la poudre de semences de Moutarde noire (1).

400 grammes de semences d'Alliaire finement moulues ont été traitées à l'ébullition à reflux par 4.000 cm³ d'acétone hydratée (à 25 cm³ d'eau pour 100 cm³ du liquide total).

Après refroidissement, expression et filtration, on a recueilli 3.700 cm³ de colature qui a été distillée jusqu'à un volume d'environ 800 cm³. Cette dernière liqueur aqueuse, séparée d'une petite quantité d'huile surnageante, a été soumise à la fermentation alcoolique, par addition de 8 grammes de levure des boulangers fraîche. La liqueur

(1) H. HÉRISSEY et R. BOIVIN. — Sur la nature chimique du glucoside sulfuré de l'Alliaire officinale, *Alliaria officinalis* D. C. ; *Journ. Pharm. Chim.*, [8], VI, 385. 1927,

fermentaire a été filtrée, neutralisée par le carbonate de calcium, filtrée à nouveau, puis évaporée sous pression réduite en consistance de sirop clair qu'on a traité à l'ébullition par 800 cm³ d'alcool à 83°-85°. Après 24 heures, la liqueur alcoolique filtrée a été distillée à fond sous pression réduite et l'extrait a été soumis, à l'ébullition à reflux, à cinq reprises consécutives, faites chacune par 120 cm³ d'alcool à 95°, à un jour d'intervalle.

Ces diverses reprises ont cristallisé sur amorce de sinigroside ; après quelques jours d'intervalle, on a recueilli ainsi 1 gr., 40 de produit cristallisé de premier jet, à peine jaunâtre.

Purification.

Nous avons opéré la purification du corps cristallisé obtenu en le faisant recristalliser dans l'alcool à 80° (10 cm³ pour 1 gr. de glucoside). Nous avons alors obtenu un corps tout à fait pur, incolore.

Caractères d'identité.

Pouvoir rotatoire. — Le corps, non purifié, a un pouvoir rotatoire lévogyre :

$$[\alpha]_D = - 15^{\circ},27$$

$$(\nu = 10 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0 \text{ gr.}, 2180, \alpha = 0^{\circ},40' = 0^{\circ},666)$$

Le corps, purifié, a un pouvoir rotatoire lévogyre :

$$[\alpha]_D = - 17^{\circ},56$$

$$(\nu = 10 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0,1896, \alpha = - 0^{\circ},40' = - 0^{\circ},666)$$

Le pouvoir rotatoire du sinigroside, soigneusement purifié, venant de la graine de Moutarde noire donnait $[\alpha]_D = - 17^{\circ},42$.

Point de fusion. — Le sinigroside, extrait de la poudre de semences de Moutarde noire, fond au bloc de MAQUENNE vers 127°.

Le glucoside extrait de la poudre de semences d'Alliaire fond aussi vers 127°.

Les deux produits mélangés fondent, au bloc de MAQUENNE, vers 127°.

c) Conclusions.

Le glucoside sulfuré des graines d'Alliaire est donc indiscutablement du myronate de potasse, sinigrine ou sinigroside. Cette démonstration n'apparaît pas comme superflue, car on conçoit qu'il puisse exister d'autres glucosides fournissant par dédoublement de l'isosulfocyanate d'allyle ; les produits d'un glucoside ne permettant pas à eux seuls d'identifier ce dernier ; on sait, en effet, que des glucosides différents peuvent donner respectivement, par hydrolyse, des quantités égales de produits identiques.

Au cours de cette seconde partie de notre thèse, nous avons démontré que c'est incontestablement au dédoublement du myronate de potasse qu'il fallait rapporter la production d'isosulfocyanate d'allyle par les graines d'Alliaire. La réaction fermentaire est tout à fait comparable à celle qui a lieu au cours de la macération aqueuse de semences de Moutarde noire.

En réalisant les conditions les plus favorables au dédoublement du myronate de potasse, c'est à-dire en ajoutant à la poudre d'Alliaire un dixième de son poids de ferment, sous forme de poudre de semences de moutarde blanche, nous obtenons sensiblement un gramme d'isosulfocyanate d'allyle pour 100 grammes de graines d'Alliaire, c'est-à-dire une quantité notablement supérieure à celle exigée pour la semence de moutarde officinale.

La poudre de semences d'Alliaire, préconisée autrefois en médecine populaire comme succédané de la poudre de semences de Moutarde noire, pourrait donc bien remplacer cette dernière dans l'usage médical, comme révulsif.



3. — Conclusions générales.

Nous avons étudié successivement la poudre de semences de Moutarde noire et la poudre de semences d'Alliaire. Ces deux drogues contiennent le même principe actif (le myronate de potasse ou sinigrine ou sinigroside) et le même ferment (la myrosine); elles possèdent sensiblement la même richesse glucosidique, mais elles n'ont pas la même richesse fermentaire, les semences d'Alliaire étant moins riches en myrosine que celles de Moutarde noire.

Nous avons fait précéder nos recherches d'un résumé bibliographique aussi complet que possible des travaux afférents à ces drogues et nous avons passé en revue les essais prescrits par les différentes Pharmacopées pour le dosage de l'allylsénévol produit au cours de la macération aqueuse de la poudre de semences de Moutarde noire.

Nos recherches personnelles nous ont permis ainsi de faire l'étude critique des travaux de nos prédécesseurs.

Nous avons pu déterminer, dans l'étude de la Moutarde noire, quelles étaient les meilleures conditions de libération de l'essence sulfurée résultant de l'hydrolyse fermentaire du myronate de potasse par la myrosine au sein des macérations de poudre de semences. Nous avons ensuite étudié le mode de distillation de l'essence produite et le mode de dosage de la thiosinamine formée ultérieurement par combinaison de l'essence avec l'ammoniaque.

Ayant voulu nous rendre compte si l'hydrolyse fer-

mentaire du glucoside était complète, nous avons cherché à doser le glucose, produit corrélativement à l'essence, par dédoublement de la sinigrine. Nous avons été amené à extraire le glucoside afin de faire des dosages d'essence et de glucose en partant de corps purs.

Nous avons d'abord appliqué, à la farine de moutarde, la méthode d'extraction du principe actif préconisée par GADAMER. Ce procédé ne nous a pas permis d'extraire la sinigrine à l'état de pureté ; ce produit était toujours mélangé à une forte proportion de saccharose.

C'est alors, qu'avec mon Maître, H. HÉRISSEY, nous avons mis au point un procédé original, sûr et pratique d'extraction de la sinigrine en traitant de la poudre de semences de Moutarde noire par de l'acétène convenablement hydratée et en faisant fermenter le produit obtenu pour détruire le saccharose qui le souillait.

Nous avons trouvé pour la sinigrine pure, cristallisée avec une molécule d'eau, un pouvoir rotatoire $[\alpha]^D = -17^{\circ},42$ (déjà signalé par SCHNEIDER et ANSCHÜTZ), supérieur au pouvoir rotatoire indiqué par les autres auteurs : $[\alpha]^D = -15^{\circ},13'$.

Sur le glucoside obtenu, nous avons étudié la réaction d'hydrolyse fermentaire. A la suite de dosages d'essence sulfurée et de glucose, nous avons été amené à contrôler l'action néfaste du bisulfate de potasse. Le bisulfate de potasse, formé au sein de la macération, développe une acidité sulfurique forte qui paralyse l'action de la myrosine et l'empêche de dédoubler complètement le myronate de potasse. Cette acidité croît à mesure que la richesse en glucoside augmente, c'est ce qui explique pourquoi les macérations contenant de faibles teneurs en glucoside libèrent la totalité d'essence et de glucose.

Nous avons alors pensé qu'il pourrait être avantageux de titrer l'essence sulfurée dégagée par une macération de *un gramme* de poudre de moutarde dans 100 cm³ d'eau

distillée au lieu d'opérer ce titrage sur une macération de 5 grammes dans 100 cm³ d'eau distillée comme le prescrit le Codex. De cette manière l'influence de l'acidité sur la myrosine est négligeable. Nous avons effectué une série d'essais en titrant l'essence dégagée par la méthode volumétrique de la Pharmacopée française et par la méthode iodométrique de MORVILLEZ et MÆSEMÆCKER. Ces essais nous ont donné des résultats nettement supérieurs à ceux fournis par des macérations de 5 grammes de poudre. Ils nous ont, en outre, permis de constater que la méthode indiquée par la Pharmacopée française pour le titrage du soufre de la thiosinamine formée était une méthode excellente, mais moins rapide que la méthode iodométrique.

En examinant les pourcentages d'allylsénèvol fournis par des macérations de diverses sortes commerciales de Moutarde noire, nous avons été amené à penser que le chiffre minimum de richesse en essence sulfurée exigé par le Codex était très facile à atteindre et qu'on pourrait le porter de 0,70 à 0,90 p. 100 ; ce dernier pourcentage devrait être celui des produits de bonne qualité.

Nos recherches sur l'Alliaire nous ont permis de voir que la poudre de semences de cette plante possède une richesse en glucoside égale ou supérieure à la richesse en glucoside de la poudre de semences de Moutarde noire, mais que sa richesse en ferment est insuffisante pour dédoubler complètement le glucoside, même au cours de macérations prolongées (38 heures).

Nous avons déterminé ensuite quelles étaient les meilleures conditions de libération de l'essence sulfurée et quelle était la quantité optima de ferment à ajouter pour hydrolyser complètement le glucoside.

Nous avons appliqué, à la poudre de semences d'Alliaire, notre méthode d'extraction du principe actif par traitement à l'acétone hydratée et fermentation, ce qui nous a permis d'isoler le glucoside.

Nous avons identifié le corps obtenu. L'Alliaire contient du myronate de potasse comme la poudre de Moutarde noire.

La poudre de semences d'Alliaire peut donc remplacer la poudre de semences de Moutarde noire dans l'usage médical, à condition de l'additionner de un dixième de son poids de poudre de semences de moutarde blanche, employée comme ferment.

Pour ces deux poudres les meilleures conditions de libération de l'allylsénévol sont réalisées en une macération aqueuse d'une heure faite à une température d'environ + 30 degrés.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,
BOUGAULT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,
M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE.

- ABDERHALDEN. — Sinigrin, *Biochemisches Handlexikon*, band 2, 714, 1911.
- BERTHELOT et DE LUCA. — Notice sur la production artificielle de l'essence de moutarde, *C. R. Ac. des Sciences*, XLI, 21, 1855.
- BILLETER. — Ueber organische Sulfocyanverbindungen, *Ber. d. d. chem. Gesells.*, VIII, 464, 1875.
- BIRKENWALD. — P. Zeitschr. Russland, *Journ. Pharm. Chim.*, XXIII, 457, 1891.
- BOERHAVE. — Elementa chemiæ, quæ anniversaria labore docuit in publicis privatisque scholis, *Lugduni Batavorum*, 1732.
- BOUTRON. — Sur l'essai de la farine de moutarde, *Bull. Sc. pharm.* [7], XIX, 385, 1912.
- BOUTRON et FRÉMY. — Nouvel examen des semences de moutardes noire et blanche, *Journ. Pharm. Chim.* [2], XXVI, 48, 1840.
- BOUTRON et FRÉMY. — Note sur les huiles volatiles de moutarde et de raifort, *Journ. Pharm. Chim.* [2], XXVI, 112, 1840.
- BRIOUX. — L'essence de moutarde des tourteaux de Crucifères, *Science agronomique française et étrangère*, 248, 1911. — *Ibidem.*, 216, 1911.
- BRIOUX. — Dosage de l'essence de moutarde dans les tourteaux des Crucifères et dans les farines de moutarde, *Ann. de Chimie analytique*, 6, 1912.

- BUSSY. — Mémoire sur la formation de l'huile essentielle de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [2, XXVI, 39, 1840.
- CARLES. — Essai de la farine de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [7], VII, 438, 1913.
- CARLES. — La farine de moutarde du commerce, *Journ. Pharm. Chim.* [7], VII, 535, 1913.
- COLOMBIER. — Etude du dosage de l'allylsénevol dans la farine de moutarde, *Ann. des falsif. et des fraudes*, XIX, 160 à 169, 1926.
- COSTE (Abbé). — Flore descriptive illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes, avec introduction sur la flore et la végétation de la France, par Ch. FLAHAULT, *Klinsieck*, 1901-1906.
- CURTEL. — Falsification des moutardes, *Ann. des falsif*, II, 215, 1909.
- DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI. — Sur la digestion brusque par la papaïne, *C. R. Soc. biol.*, LX, 68, 69.
- DIETERICH, E. -- Helfenberger Annalen, 59, 1886.
- DIETERICH, K. -- Zur Bestimmung des Senfsamens und der Senfpräparate, *Pharmaceutische Zeitung*, 767, 1900, commentées dans le *Pharmaceutische Centralhalle*, 600, 1900. Sur le dosage du principe actif dans les semences de moutarde et les préparations de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.*, 13, VII, 31, 1901.
- DIOSCORIDE. — De materia medica libriquinque, dans KÜHN-SPRENGEL, *medicorum græcorum opera quæ exstant.*, vol. 1, 52, 191, 293, 1829.
- DOMERGUE. — Titration de la farine de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [4], VII, 494, 1911.
- DUMAS et PELOUZE. — Mémoire sur l'huile essentielle de moutarde noire, *Ann. Chim. Phys.* [2], LIII, 181, 1833.
- FAURÉ. — Sur les semences de moutarde noire, *Journ. Pharm. Chim.*, XVII, 299, 1831.
- GADAMER. — Über die Bestandteile des schwarzen und des weissen Senfsamen, *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 44 à 114, 1897.

- GADAMER. — Über die Sinapinsäure, *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 570, 1897.
- GADAMER. — Über den Ursprung des Allylsenfoles aus der Wurzel von Cochlearia Armoracia, *Arch. der Pharm.*, CCXXXV, 577, 1897.
- GERLICH. — Ueber Isopropyl und Allylrhodanur, *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, VIII, 650, 1875.
- GILDEMEISTER et HOFFMANN. — Les huiles essentielles, traduction de LALOUE, 1, 129, 1912.
- GLASER. — Einige Versuche über das flüchtige Princip der Cruciferen, *Repert. für d. Pharmacie* [1], XXII, 102, 1825.
- GONNERMANN. — *Arch. f. d. ges. Phystol.*, 113, 168, 1906.
- GRÜTZNER. — Bestimmung des Senföls und des Senfspirit, *Arch. der Pharm.*, CCXXXVII, 185, 1899.
- GRÜTZNER. — Sur le dosage de l'essence de moutarde, *Bull. de la Société chimique de France* [2], 956, 1899.
- HÉRISSEY, H. — Recherches sur l'Emulsine, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 80, 1899.
- HÉRISSEY, H. et BOIVIN, R. — Sur la préparation du sinigrone (myronate de potasse, sinigrone), *Journ. Pharm. Chim.* [8], VI, 1927.
- HÉRISSEY, H. et BOIVIN, R. — Sur la nature chimique du glucoside sulfuré de l'Alliaire officinale, *Alliaria off. Journ. Pharm. Chim.*, [8], VI, 385, 1927.
- HÉRISSEY, H. et CHEYMOL. — Extractions et propriétés de la géine, glucoside générateur d'eugénol, *Bull. de la Soc. de Chimie biol.*, VIII, 4, 1925.
- HÉRISSEY, H. et SIBASSIÉ. — Recherches biochimiques sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine, contenus dans quelques graines de Légumineuses, *Journ. Pharm. Chim.* [7], XXX, 345, 1924.
- HOFMANN. — Ueber die dem Senföl entsprechendem Isomeren der Schwefelcyanwasserstoffäther, *Ber. d. d. chem. Gesells.*, 1, 25, 1868.

- HUBATKA. — Ueber die Zusammensetzung des Meerrettigs Oels, (œl. armoraciæ), *Ann. Chem.*, XLVII, 153, 1843.
- JORGENSEN. — Sur la falsification de la moutarde, *Ann. des falsifications*, II, 372, 1909.
- JORGENSEN. — Sur l'acreté et la toxicité des graines des tourteaux de Crucifères *Ann. des falsifications*, XIX, 454, 1926.
- KASTLE. — *Americ. Chem. Journ.*, 32, 372, 1904.
- KOSSOWICZ. — *Chemisch. Centralblatt*, II, 643, 1905.
- KUNZ et KRAUSE. — Uber die Ursache und Zusammensetzung der im Senföl (isosulfocyanallyl) entstehenden unloslichen Ausscheidung, *Arch. der Pharm.*, CCLIX, 16 à 33, 1921, *Bull. de la Soc. chim. de France* [47], XXX,
- LASAUSSÉ. — Abaissement du titre en essence dans les préparations de graine de moutarde noire, *Ann. des falsifications*, 275, 1927.
- LEACH. — Zusammensetzung und Verfälschung von Senfpulver; *Zeitsch. für Untersuchungen der Nahrungs und Genussmittel*, IX, 229, 1905.
- LENORMAND. — Procédé du Codex pour le titrage de la farine de moutarde, *Répert. de Pharmacie*, 493, 1911.
- LUCE et DOUCET. — Etude de la méthode du dosage de l'allylsénévol dans la farine de moutarde, *Ann. des falsifications* [6], XV, 161, 1922.
- LUDWIG et LANGE. — Ueber die Bestandtheile der Samen des schwarzen Senfs (*sinapis nigra*). Ueber das myrönsäure Kali des schwarzen Senfs, *Zeitsch. f. Chemie und Pharm.*, III, 430, 577, 1860.
- MANSIER. — Essai calorimétrique de la farine de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [23], VI, 565, 1906.
- MARGUERIT. — Sur le dosage en allylsénévol des farines de moutarde, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Lille, 1913.
- MÖLLER et THOMS. — Real Enzyklopedie der gesamten Pharmacie, 1, 449, 1903.
- MORVILLEZ et MÖSEMÉCHER. — Nouveau procédé de dosage de l'allylsénévol et étude comparée des divers procédés usités, *Journ. Pharm. Chim.* [7], XXX, 236, 1924.

- MOUSSERON. — Recherches chimiques, physico-chimiques et pharmaceutiques sur *Brassica nigra* et son essence, *Thèse pour obt. le diplôme sup. de Pharm.*, Montpellier, 1927.
- ŒSER. — Zur metamorphose des Senföls, *Lieb. Ann.*, CXXXIV, 7, 1865.
- PENAU. — Sur le dosage en allylsénévol des préparations de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [7], VI, 160, 1912.
- PHARMACOPÉES. — On n'a pas jugé utile de mentionner ici les diverses PHARMACOPÉES auxquelles notre travail fait allusion.
- PLESS. — Notiz über die flüchtigen Oel mehrerer Crüciferen *Ann. Chem.*, LVIII, 36, 1846.
- RAQUET. — Dosage de l'allylsénévol dans la farine de moutarde, *Répert. de Pharmacie* [3], XXIV, 145, 1912.
- RAQUET. — Le dosage de l'allylsénévol dans la moutarde noire et le supplément du Codex de 1908, *Journ. Pharm. Chim.* [7], XXII, 92, 1920.
- RENVERSADE. — Moutarde, Colza et Navettes, étude micrographique et chimique, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Lyon, 1913.
- ROBIQUET. — Notice sur l'huile volatile de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [2], XXVI, 116, 1840.
- RŒSER. — Sur le dosage de l'essence de moutarde, *Journ. Pharm. Chim.* [15], VI, 361, 1902.
- SCHNEIDER et ANSCHÜTZ. — Untersuchungen über Senfölglykoside, *B. d. d. chem. Ges.*, XLVI, 2637, 1913.
- TER MEULEN. — Sur quelques glucosides contenant des sénévols, *Recueil des trav. chim., Pays-Bas et Belgique* [2], XIX, 37, 1900.
- THÉOPHRASTE. — Theophrastii Eserii. Opera, quæ supersunt, omnia, *editio WIMMER*. 109, 1866.
- THIBIERGE. — Examen analytique de la graine de moutarde noire, *Journ. de Pharmacie*, XX, 439, 1819.
- VILLIERS, COLIN, FAYOLLE. — Traité des falsifications et altérations des substances alimentaires, 1909.

VON SCHLICHT. — *Pharmaceutische Zeitung*, 184, 1903.

VUILLMIN. — Senfölbestimmungen, *Apotheker Zeitung*, 187, 1904.

WEHRMANN, WEGENER, BRAUNWARTH, MEYER. — Vergleichende Untersuchungen über die Wertbestimmung von Samen Sinapis, Spiritus Sinapis, Oleum Sinapis, und Charta sinapisata nach den Verschiedenen dafür angegebenen Methoden, *Arch. der Pharm.*, CCLIII, 306 à 327, 1915.

WERTHEIM. — Ueber das flüchtige Oel der Alliaria off., *Lieb. Ann.*, LII, 54, 1844.

WILL. — Untersuchungen über die Constitution des ätherischen Oels des schwarzen Senfs, *Ann. d. Chemie und Pharm*, *Lieb. Ann.*, LII, 1, 1844.

WILL et KÖRNER. — Zur Kenntniss der Bildung des Senföls aus dem Samen des schwarzen Senfs, *Lieb. Ann.*, CXXV, 257, 1863.

ZININ. — Ueber die künstliche Bildung von ätherischem Senföl, *Journ. für prakt. Chemie*, LXIV, 504, 1855.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
AVANT-PROPOS.....	9
PLAN DU TRAVAIL.....	12
1. — Etude de la Moutarde noire	15
a) Historique	15
b) La Moutarde noire dans les diverses Pharma- copées.....	19
c) Résumé des travaux antérieurs sur le dosage de l'essence produite par la graine de Moutarde noire	24
d) Modes de préparation du ferment et du glucoside.	44
e) Etude critique du dosage de l'allylsénévol.....	47
1° Etude des conditions de macération néces- saires au développement de l'allylsénévol..	48
2° Etude de l'extraction par distillation de l'allylsénévol formé	56
3° Etude du mode de dosage de l'allylsénévol recueilli par distillation.....	57
f) Extraction du ferment (myrosine) et du glucoside (myronate de potasse, sinigrine ou sinigroside).	60
1° Essais divers d'extraction du glucoside...	62
2° Etude critique de la méthode préconisée par GADAMER.....	67
g) Procédé original d'extraction du glucoside., ...	76

h) Etude de la décomposition fermentaire du myro-	
nate de potasse.....	78
1° Dosages de l'essence.....	79
2° Dosages comparatifs d'essence et de gluco-	
side.....	83
3° Conclusions et application.....	87
2. — Etude de l'Alliaire.....	93
a) Historique ; caractères généraux de la plante ;	
richesse en principe actif ; étude de la pro-	
duction de l'essence sulfurée.....	93
1° Etude de la plante fraîche.....	99
(Détermination de la richesse en essence et	
en glucoside des différentes parties de la	
plante fraîche) — (détermination de la	
teneur en eau).	
2° Etude des conditions de dédoublement du	
glucoside sulfuré contenu dans la poudre de	
semences d'Alliaire	102
3° Conclusions.....	109-112
b) Extraction du glucoside ; identification	110
3. — Conclusions générales	115
4. — Bibliographie.....	119
Index alphabétique des différents auteurs	119
5. — Table des matières	125

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
